

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
Programa De Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Bruna Gabriela Siqueira Souza Sudré

**QUEIJO MINAS ARTESANAL: Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva
resistente a antibióticos e aceitação sensorial em relação
a queijos industrializados**

Diamantina
2018

Bruna Gabriela Siqueira Souza Sudré

**QUEIJO MINAS ARTESANAL: Ocorrência de *Staphylococcus coagulase positiva*
resistente a antibióticos e aceitação sensorial em relação
a queijos industrializados**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo de Souza Costa Sobrinho

**Diamantina
2018**

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S943q

Sudre, Bruna Gabriela Siqueira Souza

Queijo Minas Artesanal: ocorrência de *Staphylococcus coagulase* positiva resistente a antibióticos e aceitação sensorial em relação a queijos industrializados / Bruna Gabriela Siqueira Souza Sudre, 2018. 82 p. : il.

Orientador: Paulo de Souza Costa Sobrinho

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.

1. Inocuidade de alimentos. 2. FTIR- ATR. 3. Queijo artesanal. 4. *Staphylococcus*. I. Costa Sobrinho, Paulo de Souza. II. Título. III. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

CDD 664

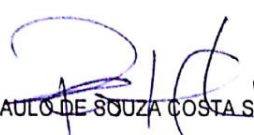
BRUNA GABRIELA SIQUEIRA SOUZA SUDRE

**QUEIJO MINAS ARTESANAL: Ocorrência de *Staphylococcus*
coagulase positiva resistente a antibióticos e aceitação sensorial
em relação a queijos industrializados**


Dissertação apresentada ao
MESTRADO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, nível
de MESTRADO como parte dos
requisitos para obtenção do título de
MAGISTER SCIENTIAE EM CIÊNCIA
E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Orientador (a): Prof. Dr. Paulo De
Souza Costa Sobrinho

Data da aprovação : 13/09/2018



Prof.Dr. PAULO DE SOUZA COSTA SOBRINHO - UFVJM



Prof.Dr.ª NISIA ANDRADE VILLELA DESSIMONI PINTO - UFVJM



Prof.Dr.ª LARISSA DE OLIVEIRA FERREIRA ROCHA - UFVJM

À Deus, que guia meus passos, ilumina meus caminhos e me dá forças.

Ao meu esposo por todo apoio, compreensão e todo companheirismo.

Aos meus pais, por todo empenho dedicação e carinho.

Agradecimentos

Agradeço a Deus o dom da vida, seu amor e misericórdia infinitos, por traçar planos tão belos para mim.

É com grande orgulho que concluo mais esta etapa da minha vida. Mas esta conquista com certeza não se realizou somente diante do meu esforço, mas sim da união de uma equipe e de pessoas que não me ajudaram somente na execução do projeto, mas com algum tipo de apoio, oração ou simplesmente um sentimento bom ou um bem querer.

Agradeço ao professor Paulo de Souza Costa Sobrinho pela orientação e auxílio prestado, a confiança depositada, a compreensão, o esforço em ajudar, e todo incentivo. Tenho muita gratidão por todos os seus ensinamentos e admiro muito sua capacidade de se doar em prol do conhecimento. Seu exemplo profissional e pessoal será levado por mim por toda a vida.

Agradeço aos meus pais, Ivanilton e Simone, pelo amor e por todo esforço para garantia de uma boa formação acadêmica e profissional. A minha irmã Joana meu agradecimento especial, pois, a seu modo, sempre se orgulhou de mim e confiou em meu trabalho. Obrigada pela confiança!

A meu querido esposo Renato, por ser tão importante na minha vida. Sempre a meu lado, me colocando para cima e me fazendo acreditar que posso mais que imagino. Obrigada por ter feito do meu sonho o nosso sonho! Pela sua incansável boa vontade em me ajudar, por perder noites de sono e fins de semana e feriados ao meu lado, só para me fazer companhia, compartilhando meus ideais e incentivando-me a prosseguir, insistindo para que eu avançasse cada vez mais.

Agradeço à minha querida Vó Cira, que já não está presente fisicamente, mas sim ao lado de Deus, olhando por mim e ajudando a guiar meus passos pelos caminhos da vida.

Aos meus amigos de Mestrado que compartilharam comigo esses momentos de aprendizado, especialmente à Júlia, rimos, choramos e trabalhamos e como hein?!

Aos técnicos Eliznara, Alexandre e Mayara por toda disponibilidade e ajuda.

Enfim, a todos aqueles que de uma maneira ou de outra contribuíram para que este percurso pudesse ser concluído.

Os queijos de leite cru são produtos vivos, cuja matéria-prima evolui a cada dia. São o reflexo dos solos e dos céus. É preciso, pois, aceitar seus caprichos, suas mudanças de humor, e saber mostrar-se indulgente quando eles apresentarem uma qualidade às vezes irregular. Este é o preço para que tão frequentemente eles sejam excepcionais!

Arnaud Sperat-Cza

Resumo

O queijo Minas Artesanal (QMA) é produzido a partir de leite cru, geralmente em pequenas propriedades rurais, e é reconhecido como Patrimônio Cultural Imaterial Brasileiro. Características regionais como a altitude, o clima e a pastagem permitem que o queijo tenha um sabor típico e único o diferenciando dos demais, justificando a preferência de consumo. O QMA é um alimento muito consumido, porém a sua produção a partir de leite cru, apesar de tradicional merece atenção, devido a possibilidade de veiculação de micro-organismos patogênicos como o *Staphylococcus aureus*. A contaminação pode ter origem no leite e nas práticas de fabricação do queijo, podendo agravar-se pela resistência antibiótica devido ao uso excessivo de antibióticos para o tratamento de patologias no gado. Com o propósito de estudar o queijo Minas artesanal, os objetivos dessa pesquisa foram analisar a resistência antibiótica de isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva e avaliar a aceitação sensorial entre o queijo Minas artesanal do Serro e queijos industrializados. Os queijos também foram caracterizados por meio de análises físico-químicas e por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier e reflectância total atenuada (FTIR-ATR). Para o isolamento de *Staphylococcus* coagulase positiva foram adquiridas 35 amostras de QMA de diversas regiões produtoras do estado de Minas Gerais. Utilizou-se o método de plaqueamento em superfície de ágar Baird Parker, com confirmação de 10 colônias características por meio dos testes de catalase e coagulase. Em seguida, os isolados coagulase positiva foram submetidos ao teste de difusão em discos para avaliação da sensibilidade a antimicrobiano. A aceitação sensorial foi avaliada em duas sessões utilizando uma escala hedônica como referência. Os queijos industrializados utilizados foram: muçarela, minas padrão e meia cura produzidos pela cooperativa de produtores de queijo do Serro e adquiridos no comércio local da cidade de Diamantina, Minas Gerais. Os queijos artesanais utilizados foram adquiridos diretamente de dois produtores em diferentes condições, um dos queijos artesanais foi embalado a vácuo e maturado sob temperatura controlada de 8°C, enquanto o outro foi adquirido do produtor cuja maturação ocorre em temperatura ambiente sem embalagem. De modo geral nas duas sessões realizadas, os queijos industrializados foram preferidos em relação aos queijos artesanais de referência. Como resultado da susceptibilidade a antimicrobianos, observou-se elevada resistência a antibióticos. Dos 294 isolados avaliados, 156 (53,1%) foram resistentes a oxacilina e 144 (49%) a cefoxitina, sendo que 50% dos isolados foram resistentes a pelo menos 2 antibióticos e 24,8% a mais de seis antibióticos. A resistência é agravada pelo uso indevido e acentuado de antibióticos tanto na prática da medicina humana quanto na veterinária.

Palavras Chave: Análise Sensorial. FTIR- ATR. Resistência Antimicrobiana.

Abstract

The Artisanal Minas cheese (AMC) is produced from raw milk, usually in small, rural properties, and is recognized as Brazilian Intangible Cultural Heritage. Regional characteristics such as altitude, weather and pasture provide the cheese with a typical, unique flavor, differentiating it from the other cheeses, justifying the consuming preferences. The AMC is a very consumed food. However, its raw milk-based production, although traditional, deserves attention, due to the possibility of it carrying pathogenic microorganisms such as *Staphylococcus aureus*. The contamination may have its origins in the milk and in cheese's manufacturing practices, and it can be aggravated by antibiotic resistance due to the excessive use of antibiotics to treat pathologies in cattle. Aiming to study artisanal Minas cheese, the goals of this research were to analyze the antibiotics resistance of isolates of coagulase positive *Staphylococcus* and evaluate the sensorial acceptance among artisanal Minas cheese and industrialized cheeses from Serro. The cheeses were also characterized through physical-chemical analysis and through Fourier transform infrared spectroscopy and attenuated total reflectance (FTIR-ATR). To isolate coagulase positive strains of *Staphylococcus*, 35 units of artisanal Minas cheese of several regions that produce it in the state of Minas Gerais were acquired. The Baird Parker agar surface plating method was used and there was a confirmation of 10 distinctive colonies through catalase and coagulase tests. Then, the positive coagulase isolates were submitted to the disc diffusion test in order to evaluate antimicrobial sensibility. The sensorial acceptance was evaluated in two sessions, using a hedonic scale as reference. The industrialized cheeses that were used were the mozzarella, Minas standard and half cure produced by the cooperative of cheese producers from Serro (CooperSerro) which were acquired on the local commerce of the city of Diamantina, Minas Gerais. The artisanal cheeses that were used were acquired directly from two producers in different conditions: one of them was vacuum packed and matured under a controlled temperature of 8°C, while the other was acquired from a producer whose maturation happens in ambient temperature without packing. Generally, on both sessions, the industrialized cheeses were preferred over the artisanal cheeses. As a result of antimicrobial susceptibility, a high antibiotics resistance was observed. Of the 294 isolates evaluated, 156 (53.1%) were resistant to oxacillin and 144 (49%) were resistant to cefoxitin, with 50% of the isolates being resistant to at least 2 antibiotics and 24.8% being resistant to more than six antibiotics. The resistance is aggravated by misusing and overusing antibiotics both in human and veterinary medicine.

keywords: Sensory Analysis. FTIR-ATR. Antimicrobial Resistance.

Lista de ilustrações

Figura 1 – Regiões produtoras de queijo Minas artesanal em Minas Gerais	25
Figura 2 – Perfil de resistência de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva isolados de queijo Minas artesanal aos antibióticos Sulfazotrim (SUT), Cefoxitina (CFO), Ceftriaxona (CRO), Cefepime (CPM), Cefotaxima (CTX), Oxacilina (OXA), Clindamicina (CLI), Cefuroxima (CRX), Ceftazidima (CAZ), Ciprofloxacina (CIP) e Cefaclor (CFC)	51
Figura 3 – Distribuição da resistência a antibióticos de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva isolados de queijo Minas artesanal por região produtora	52
Figura 4 – Distribuição da resistência a múltiplos antibióticos de isolados de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva isolados de queijo Minas artesanal.	53
Figura 5 – Distribuição de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva resistente a múltiplos antibióticos isolados de queijo Minas artesanal por região produtora.	54
Figura 6 – Ficha de avaliação da aceitação sensorial de queijo Minas artesanal em relação a queijos industrializados utilizando uma escala hedônica com referência	66
Figura 7 – Mapa de correspondência múltipla da preferência por queijo artesanal maturado a 8°C (A) e a temperatura ambiente (B) para gênero, faixa etária e ocupação	69
Figura 8 – Espectros das amostras do queijo Minas artesanal e Industrializados do Serro referente a primeira sessão da análise sensorial	74
Figura 9 – Espectros das amostras do queijo Minas artesanal e Industrializados do Serro referente a segunda sessão da análise sensorial	75

Lista de tabelas

Tabela 1 – Média dos resultados físico-químicos dos queijos artesanais de Minas Gerais	27
Tabela 2 – Informações demográficas referente aos provadores da análise sensorial de queijos artesanais e industrializados	68
Tabela 3 – Estimativas dos efeitos fixos da análise de variância para aceitação de queijos industrializados em relação a queijo artesanal da região do Serro, maturado a 8°C (1ª sessão) e a temperatura ambiente (2ª sessão)	70
Tabela 4 – Características físico-químicas das amostras dos queijos utilizadas na avaliação sensorial.	71

Lista de abreviaturas e siglas

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional da Vigilância Sanitária
ATCC	American Type Culture Collection
ATR	Refletância Total Atenuada
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
FTIR-ATR	Espectroscopia no infravermelho por reflectância total atenuada
FUNED	Fundação Ezequiel Dias
IMA	Instituto Mineiro de Agropecuária
IPHAN	Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional
ISBN	International Standard Book Number
MG	Minas Gerais
MRSA	Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus
NBR	Norma Brasileira
NIR	Near Infrared
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
RAM	Resistência a Meticilina
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Sumário

1. Introdução.....	21
2. Objetivos	24
2.1 Objetivos Gerais	24
2.2 Objetivos Específicos.....	24
3. Revisão da literatura.....	25
3.1 Queijo Minas Artesanal:.....	25
3.2 Queijos: Aspectos físico-químicos	26
3.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	27
3.3.1 Resistência Antibiótica.....	28
3.3.2 Mecanismo de Resistência	29
3.3.3 Dados de infecções por MRSA no Brasil.....	30
3.4 Análise sensorial	31
3.5 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e reflectância total atenuada (FTIR-ATR):.....	37
Referência	33
Capítulo 2.....	45
Ocorrência de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva resistente a antibióticos em queijo Minas artesanal.....	45
1. Introdução	47
2. Metodologia	49
2.1 Enumeração de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva presente no queijo Minas artesanal.....	49
2.2 Teste de Suscetibilidade aos Antibióticos	50
2.3 Análise Estatística	58
3. Resultados e discussão	50
Referências	55
Capítulo 3.....	61
Aceitação sensorial e Caracterização por espectroscopia no infravermelho(FTIR-ATR) do queijo Minas artesanal do Serro.....	61
1. Introdução	63
2.0 Metodologia	64
2.1 Aquisição e descrição das amostras de queijo	64
2.2 Teste de consumidor.....	65
2.3 Análises físico-químicas das amostras de queijo.....	66
2.4 Caracterização das amostras de queijos por espectroscopia no infravermelho com transformada de fourier e reflectância total atenuada (FTIR_ATR).....	67

2. 5 Análise estatística	67
3 Resultado e Discussão	68
3.1 Análise esensorial	68
3.2 Caracterização das amostras de queijos por espectroscopia no infravermelho com transformada de fourier e reflectância total atenuada	73
4 Conclusão	76
Considerações finais.....	77
Referências.....	78

1 INTRODUÇÃO

Produto símbolo da identidade brasileira e mineira, o queijo Minas artesanal (QMA) é considerado um patrimônio cultural imaterial Brasileiro, devido a peculiaridade no método de fabricação, qualidade e sabor do produto final que o torna diferente dos demais (MARTINS, 2006). Com fabricação simples e baixo custo, o QMA apresenta relevante significado, tanto cultural, como econômico (PERIN *et al.*, 2017).

A fabricação de modo artesanal representa uma parte significativa de todo o queijo fabricado no Estado (PINTO, 2008; EMATER, 2017). O QMA recebe a denominação de origem de acordo com a região que é produzido, como Araxá, Campo das Vertentes, Canastra, Cerrado, Serro, Serra do Salitre e Triângulo Mineiro.

Cada fazenda apresenta uma tradição considerado seus “segredos” na arte de fabricar os queijos, na busca de um obter um produto único. Ainda que estes queijos sejam elaborados no mesmo estado e provenientes de pequenos produtores rurais, cada um apresenta atributos diversos, de acordo com a tradição cultural e histórica da localidade do estado onde foi fabricado (RESENDE, 2010).

Comparando o queijo artesanal ao queijo de leite pasteurizado, a aceitação do consumidor por queijos artesanais de leite cru vem aumentando devido ao sabor. No queijo de leite cru o aroma e sabor se deve essencialmente pela diversa microbiota endógena e enzimas naturais do leite. Fatores como a altitude, o clima, a pastagem nativa e diversas características regionais, auxiliam para que o queijo Minas artesanal tenha um sabor único e diferenciado dos demais (NETTO, 2014). Dentre os micro-organismos se destaca o *Staphylococcus aureus*, que é uma causa frequente de doenças transmitidas por alimentos, infecções hospitalares e em ambientes, podendo apresentar altos valores de morbidade e mortalidade (CALFFE, 2012).

A produção de queijos a partir de leite cru, apesar de ser tradicional, merece cuidados especiais devido a possibilidade de veiculação de micro-organismos patogênicos, representando importante questão de saúde pública.

No rebanho leiteiro, *Staphylococcus* spp. são frequentemente isolados, demonstrando grande importância epidemiológica e clínica no caso de infecções como a mastite. De acordo com Andrade, *et al.*, (2009), falhas no manejo da ordenha, na prevenção e diagnóstico de infecções é o principal fator da elevada taxa de isolamento, pois a transmissão de *Staphylococcus* spp ocorre principalmente durante a ordenha, já que as glândulas mamárias são reservatórios desse micro-organismo.

Segundo Correa *et al.*, (2009), a contaminação do leite por *Staphylococcus* spp se dá primordialmente, a partir da glândula mamária, porém também pode ocorrer através manipulação humana. Os queijos artesanais são produzidos seguindo a tradição da região de origem, porém nem sempre as boas práticas de fabricação são adotadas, acarretando a

contaminação do queijo, além do comprometimento da qualidade do leite devido a doença infecciosas que acometem o rebanho (SOBRAL *et al.*, 2017).

O queijo artesanal é apontado como uma das principais causas de intoxicação alimentar estafilocócica devido a sua composição e ao fato de ser produzido manualmente (OLIVEIRA *et al.*, 2015). O controle contra a contaminação por patógenos dos queijos artesanais tende a ser mais difícil comparando a queijos de leite pasteurizado, dificultando a padronização e tornando o queijo artesanal potencialmente inseguro para o consumo (SOBRAL *et al.*, 2017).

Os sintomas da intoxicação estafilocócica em humanos são os mais variados, como diarreia, cefaléia e dores abdominais. Mesmo sendo classificada no grupo de risco II e considerada como uma doença de perigo moderado, em pessoas idosas, imunossuprimidos e crianças de pouca idade podem ser fatais (BRASIL, 2017; BRASIL, 2018; FERREIRA *et al.*, 2010; NEUSELY *et al.*, 2017).

O *S. aureus* possui capacidade de adquirir resistência aos antibióticos, se tornando uma das maiores preocupações de saúde pública enfrentada nos últimos anos, o agravamento da resistência a antibióticos em populações bacterianas leva a complicação do tratamento destas infecções (MIMICA, 2012).

A principal fonte de resíduos de antibiótico no leite se deve ao manejo inadequado de antimicrobianos usados no tratamento da mastite ou outras doenças infecciosas que acometem o rebanho. O principal fator é o uso indiscriminado de medicamentos, desrespeito ao período de carência e ausência de controle veterinário (ARAÚJO *et al.*, 2015).

A resistência a antibióticos é preocupante, pois estes micro-organismos podem ser transmitidos ao homem pelo consumo de alimentos contaminados (RAPINI *et al.*, 2004). Segundo a Organização Mundial de Saúde, se nada for feito até 2050, a resistência a antibióticos matará mais que câncer, cerca de 10 milhões de pessoas no mundo, isso significa um óbito a cada 3 segundos (OMS, 2014).

De acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de queijos (ABIQ), o consumo anual de queijo *per capita* atualmente é de 5,4 Kg (MILKPOINT, 2017; PORTAL DO QUEIJO, 2016). Informações sobre o consumo e produção dos queijos artesanais são raras pelo fato da grande maioria ser produzido e vendido localmente ou na informalidade (VINHA *et al.*, 2010), cenário este, que deve ser alterado após a implantação da Lei 13.680/18, permitindo a comercialização em todo o país de produtos artesanais de origem animal: queijos, salsichas, linguiças, presuntos, mortadelas, salames e geleias.

Um parâmetro importante no consumo de queijos é a forma em que são preparados, artesanal ou processado. Há consumidores que preferem queijos artesanais, consumidores que preferem queijos processados e há aqueles que consomem ambos (MURPHY *et al.*, 2004).

O queijo artesanal é produzidos através de leite cru, adicionado o pingo “fermento

endógeno” cada produtor possui uma técnica de preparo, influenciando no sabor que é único e diferenciado dos demais. Já o queijo processado é fabricado a partir de leite pasteurizado, visando eliminar os patógenos, sem que ocorra grande alteração da constituição física, química e propriedades sensoriais, gerando um produto uniforme de sabor e com baixa incidência de defeitos (SILVEIRA, *et al.*, 2003).

Pesquisas realizadas comparando a aceitação de diferentes tipos de queijos artesanais e industrializados, detectaram diferenças significativas no perfil sensorial e nas características físico-químicas. Tais diferenças são atribuídas principalmente ao fermento lácteo endógeno e ao conteúdo microbiano presente no leite utilizado na produção do queijo. Além disso, o sabor do queijo pode ser afetado pela desnaturação das proteínas durante o processo de pasteurização (FERNANDEZ-GARCIA *et al.*, 2002; HICKEY *et al.*, 2007; MURPHY *et al.*, 2004; REHMAN *et al.*, 2000; VAN LEUVEN *et al.*, 2008).

A avaliação sensorial é essencial para identificar e definir a aceitação ou preferência de determinado alimento. Entretanto, os testes sensoriais requerem tempo e acarretam custos, que são indesejáveis. Assim, na rotina do controle de qualidade busca-se correlacionar a aceitação sensorial com técnicas instrumentais rápidas, confiáveis e de baixo custo. Nesse contexto, a espectroscopia no infravermelho tem demonstrado grande potencial como metodologia analítica confiável para caracterização e controle de qualidade de alimentos, incluindo os queijos.

Desta forma, além da epidemiologia de *Staphylococcus* coagulase positiva resistente a antibióticos, a presente pesquisa visa avaliar a aceitação sensorial de queijo Minas artesanal do Serro em relação a queijos processados e caracterizar esses queijos por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

A presente pesquisa foi desenvolvida com os objetivos de:

1. Avaliar a ocorrência de isolados de *S. aureus* coagulase positiva resistente a antibióticos em queijos Minas artesanais;
2. Avaliar a aceitação sensorial e caracterizar por espectroscopia no infravermelho, o queijo Minas artesanal do Serro em relação a queijos industrializados.

2.2 Objetivos específicos

Para atingir o objetivo de avaliar a ocorrência de *S. aureus* coagulase positiva resistente a antibióticos :

1. Isolar e enumerar de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijo Minas artesanal de diferentes regiões produtoras;
2. Avaliar a susceptibilidade dos isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva a 11 (onze) antibióticos conforme recomendação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária: Sulfazotrim (25 µg), Cefoxitina (30 µg), ceftriaxona (30 µg), cefepime (30 µg), cefotaxima (30 µg), oxacilina (1 µg), clindamicina (2 µg), cefuroxima (30 µg), ceftazidima (30 µg), ciprofloxacina (5 µg) e cefaclor (30 µg).

Para atingir o objetivo de avaliar a aceitação sensorial e caracterizar, por espectroscopia no infravermelho, o queijo Minas artesanal do Serro em relação a queijos industrializados :

1. Avaliar sensorialmente através do teste de aceitação de queijo industrializados tendo como referência o queijo artesanal do Serro, utilizando a escala hedônica com referência proposta por Bergara-Almeida e Silva (2002);
2. Avaliar as características físico-químicas: pH, umidade, acidez, cinzas e teor de cloreto de sódio dos queijos avaliados no teste sensorial por métodos analíticos tradicionais;
3. Utilizar a espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier e reflectância total atenuada como ferramenta para caracterização química do queijo artesanal do Serro e de queijos industrializados.

3.0 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Queijo Minas Artesanal

O queijo Minas artesanal é considerado um patrimônio cultural Imaterial desde 2008, pelo Instituto Patrimônio Histórico Nacional - IPHAN (BRUMADO, 2016). Este reconhecimento se deve a uma tradição mineira secular, onde o modo de fabricação do queijo é único, o diferenciando dos demais (MENESES, 2006).

O queijo artesanal produzido no Brasil surgiu no período colonial e sua produção se mantém até os tempos atuais, conservando as características tradicionais da região da qual é oriundo. A partir do final do século XVII a produção de queijos aconteceu de forma acentuada durante o ciclo da mineração. Para solucionar os problemas de escoamento do leite cru da zona rural para as cidades, principalmente devido ao relevo montanhoso do estado de Minas Gerais, surgiu a produção do queijo como estratégia para conservar os nutrientes do leite cru, e assim distribuí-los para o mercado consumidor no lombo de animais (IPHAN, 2014).

O QMA é produzido principalmente em sete regiões de Minas Gerais: Serro, Serra da Canastra, Serra do Salitre, Campo das Vertentes, Cerrado, Araxá e Triângulo Mineiro (FIG.1) sendo fonte de renda para cerca de 30 mil famílias em mais de 600 municípios do Estado, produzindo cerca de 220 mil toneladas ao ano, mantendo o Brasil como o 6º maior produtor de queijo do mundo, pouco mais da metade de todo o queijo consumido no país vem de Minas Gerais (EMATER, 2017; MILKPOINT, 2017; IMA, 2018).

Figura 1 – Regiões produtoras de queijo Minas artesanal em Minas Gerais



Fonte: Amarante, J. O. A. Regiões demarcadas. Disponível em: <https://www.amarantevinhos.com.br/outras-paix%C3%B5es/minas-artesanal/regi%C3%B5es-demarcadas/>

O QMA é caracterizado pela produção a partir do leite integral de vaca, fresco e cru, fabricado geralmente em pequenas propriedades rurais. O queijo final contém cor e sabor únicos, consistência firme, massa uniforme, olhaduras mecânicas presentes ou não e isento de conservantes e corantes (MINAS GERAIS, 2002).

Cada fazenda tem uma tradição de fabricar seus queijos, buscando dar especificidade e obter um produto único. Apesar de os queijos serem produzidos na mesma região e provenientes de pequenos produtores rurais, cada queijo se torna único, apresentando características sensoriais e físico-químicas distintas e original conforme a tradição histórica e cultural da região do Estado onde foi produzido (REZENDE, 2010).

Os fatores físico-naturais de cada região como as pastagens e as condições típicas de desenvolvimento das bactérias específicas, benéficas para a característica de cada queijo, aliadas a tradição, ao modo próprio de preparo do queijo, a manipulação do leite, dos coalhos, das massas, das formas de prensagem e do tempo de maturação (cura), dão a cada queijo aparência e sabor peculiares.

O QMA do Serro tem como padrões de identidade características peculiares, como ser produzido a partir de leite cru integral e do uso do “pingo” fermento lácteo natural que preserva a sua microbiota original, além de ser cilíndrico, com coloração branca amarelada, pesar entre 700 gramas e um quilo, apresentar casca de crosta fina e massa interna esbranquiçada, consistente e de sabor levemente ácido (MINAS GERAIS, 2002). Ele é apreciado graças ao conhecimento passado entre gerações e às suas características peculiares.

3.2 QUEIJOS: Aspectos Físico-Químicos

As características físico-químicas podem variar bastante entre os queijos artesanais, sendo influenciada pela composição, pH e acidez do leite, alimentação do rebanho e fatores climáticos da região.

Conforme o Decreto 42.645 de 2002, 44.864 de 2008 e a Lei n. 14.185, de 31 de janeiro de 2002, que fixa os parâmetros microbiológicos e físico-químicos para queijos Minas artesanais, os critérios para regularização são: umidade 45,9%, negativo para presença de amido e positivo para atividade de fosfatase alcalina.

Apesar da legislação não estabelecer padrões para outros fatores análises físico-químicas, como pH, gordura, acidez, proteína e acidez, alguns pesquisadores avaliaram as características físico-químicas dos diversos queijos Minas artesanais. Araújo, 2004; Pinto, 2004; Silva *et al.*, 2011 e Embrapa 2016, observaram uma variação nas características físico-química de queijos pertencentes a diferentes regiões produtoras e falta de padronização, justificando assim a diversidade no processamento.

Na tabela 1 são apresentados resultados de análises físico-químicas referente a QMA, e observa-se uma variações entre os queijos, esse fator se justifica pelo modo de fabricação de cada região e pelas características do local.

Tabela 1 – Média dos resultados físico-químicos dos queijos artesanais de Minas Gerais

Atributo	Araxá	Serro	Canastra
pH	4,0856	4,751	5,343
Atividade de água	0,976	0,921	ND
Gordura (%)	28,296	28,211	27,583
Umidade (%)	45,056	48,221	43,493
Cloreto (%)	2,066	1,621	1,953
Proteína total (%)	24,406	22,401	29,904
Cinzas	ND	3,792	4,355

Fonte: (ARAÚJO, 2008; MACHADO *et al.*, 2004; PINTO 2004;

RESENDE, 2010; SILVA, 2007; VARGAS *et al.*, 1998;). ND = Não disponível.

Fatores como a raça, espécie, estado nutricional, individualidade, saúde e estágio de lactação do animal que produziu o leite, também interferem nas características físico-químicas. O leite como matéria-prima para fabricação de queijos deve ser proveniente de animais sadios com baixa contagem de células somáticas, livre de impurezas químicas, odores e ácidos orgânicos que venham afetar o *flavour* do queijo e livre de antibióticos a fim de evitar a inibição das bactérias do fermento láctico (FOX, 2000).

A microbiota presente, assim como os fatores intrínsecos ao queijo: pH, teor de sal, umidade na massa e acidez desempenham papel de extrema importância na formação do sabor e textura dos queijos maturados (LICITRA, 2010).

3.3 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* se sobressai como um dos micro-organismos constantemente associados às infecções intramamárias de bovinos, intoxicação alimentar e resistência a antibióticos (VASUDEVAN *et al.*, 2003; COSTA, 2008).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos gram-positivos, pertencentes à família *Micrococcaceae*. São anaeróbias facultativas, catalase e coagulase positiva e com melhor desenvolvimento em aerobiose além de fermentação de açúcares como manitol e maltose. São bactérias mesófilas, cuja temperatura de crescimento de 7 a 47,8°C irá divergir de acordo com a concentração de sal podendo tolerar de 10% a 20%, atividade de água e pH (SILVA *et al.*, 2010).

Em concentrações superiores a 10^5 UFC/g de alimento o *S. aureus* pode produzir toxinas estafilocócicas nos alimentos, ao ingerir um alimento que apresente a toxina pré-formada o indivíduo desenvolve intoxicação alimentar, manifestando sintomas variados pois dependem do grau de suscetibilidade do indivíduo, da concentração da enterotoxina e quantidade consumida do alimento (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

A enterotoxina é um potencial risco à saúde pública, pois ao ser ingerida pode levar a um quadro de gastroenterite aguda. Fator preocupante devido as toxinas serem resistentes à hidrólise pelas enzimas gástricas e jejunais (LE LOIR *et al.*, 2003), são estáveis ao aquecimento a 100°C no período de 30 minutos, além de não serem inativadas totalmente pela cocção normal, pasteurização e outros tratamentos térmicos usuais (JAY, 2005).

De acordo com o ministério da Saúde (2017) *S.aureus* ocupa terceiro lugar, logo atrás de *E. coli* e *Salmonella*, como agente etiológico causador de surtos responsáveis pelas doenças transmitidas por alimentos DTAs (BRASIL, 2017).

Pesquisas realizadas em queijos artesanais mostram, frequentemente populações de *S.aureus* superiores a 3 log UFC/g, apresentando elevada contaminação (aproximadamente 70% das amostras) (BORELLI *et al.*, 2006; BORGES *et al.*, 2003 E 2007; BRANT, FONSECA E SILVA, 2007; CARVALHO *et al.*, 2007; FEITOSA *et al.*, 2003; GUNDOGAN E AVCI EBRU, 2014; LOGUERCIO E ALEIXO; MORAES *et al.*, 2009; REZENDE *et al.*, 2010; VIANA *et al.*, 2009, 2001; WILLIANS E WITHERS, 2010).

3.3.1 Resistência Antibiótica

Nos últimos anos, tem-se observado uma crescente disseminação de micro-organismos resistentes aos antibióticos, com destaque para *S. aureus*, que é uma bactéria de relevância clínica que tem chamado a atenção devido a crescente resistência a antibióticos, particularmente o grupo de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA – Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) tendo como agravante do efeito cumulativo e consequente a multirresistência (RICH *et al.*, 2005).

Resistência antimicrobiana (RAM) consiste na capacidade dos micro-organismos tornarem-se cada vez mais resistentes a um ou mais antibióticos, que anteriormente era suscetível, ou seja é uma consequência da seleção de mutação genética (OMS, 2005). A RAM está disseminada em todos os locais do mundo, comprometendo o êxito no tratamento de doenças infecciosas (OMS, 2014).

A resistência bacteriana a antibióticos pode ser um sério problema de saúde pública, devido ao fato das bactérias resistentes serem transmitidas ao homem por meio da ingestão de alimentos contaminados (SILAPAJARN, 2005).

A RAM é agravada pelo uso indevido e acentuado de antibióticos tanto na prática da medicina humana quanto na veterinária. As condições e práticas de higiene precárias nos hospitais e na cadeia alimentar ajudam na transmissão de micro-organismos resistentes, levando a diminuição da efetividade dos antibióticos (PAIN, 2014).

O setor agrícola é uma das esferas que utilizam antibióticos em larga escala, tanto para fins terapêuticos como o tratamento de infecções que acometem o gado, quanto na suplementação dietética para alimentação animal. Esta prática possibilita o aumento de vestígios de antibióticos no leite, o que pode levar ao favorecimento de cepas resistentes (CHA, VAKULENKO, MOBASHERY, 2007; KARAHAN, AÇIK, CETINKAYA, 2009).

Com a crescente preocupação, tem surgido pesquisas em relação a resistência antimicrobiana em leite cru e queijos artesanais, encontrando resultados preocupantes de resistência (FIEMING *et al.*, 2010; LAPINHA, 2012; MEHLI *et al.*, 2017; SUNDE e NORSTROM, 2006; TAMBEKAR e MUNDHADA, 2006).

3.3.2 Mecanismo de Resistência

As bactérias desenvolvem resistência aos antibióticos de diferentes formas, geralmente a resistência pode ser apresentada em três formas sendo: 1) mudança na permeabilidade da membrana celular impedindo a entrada do antibiótico na célula, ou fazendo que o antibiótico seja bombeado para fora da célula; 2) capacidade de degradar ou inativar o antibiótico; 3) capacidade de adquirir mutação alterando o alvo de um antibiótico de modo que este não é afetado (SABISTON, 2013).

Os genes de resistência podem surgir imediatamente em uma população de células, resultado de uma mutação ou, esses genes podem ser adquiridos a partir de um outro micro-organismo através da transferência horizontal do gene que é um processo em que os genes podem ser trocados entre espécies microbianas não relacionadas (SABISTON, 2013).

As bactérias podem apresentar resistência intrínseca ou adquirida aos antibióticos. A resistência natural pode ocorrer devido a variação da permeabilidade da parede celular para diversos antibióticos, por produção de enzimas que vão degradar ou modificar os cromossomos, ou ainda a modificação espontânea de cromossomos de genes alvos dos antibióticos (COSTA, 2010).

A resistência adquirida pode ocorrer por diferentes formas: pela aquisição de genes, por recombinação de DNA exógeno no cromossoma da bactéria ou, por mutação (PALERMO NETO e ALMEIDA, 2006), pode ocorrer a produção de enzimas que vão modificar a parte ativa da molécula do medicamento e assim o tornando inativo, ou sintetizar novas enzimas que não sofrem a ação do antibiótico e que possuem a mesma atividade metabólica das enzimas que

são inativadas.

As bactérias se tornam resistentes aos antibióticos betalactâmicos através da produção de betalactamases que são enzimas com poder de hidrolisar o anel betalactâmico e dessa forma transformar os antibióticos em produtos inativos (CHAMBERS *et al.*, 1985).

Os antibióticos beta-lactâmicos ligam-se a proteínas PBPs - proteínas ligadoras de penicilina, e assim impedem a formação da parede celular e a lise bacteriana. A codificação das proteínas PBPs, tornam os patógenos resistentes à oxacilina, e está relacionada à aquisição do gene *mecA*, participando do elemento genético móvel presente em isolados de MRSA (CHAMBERS, 1997).

A resistência bacteriana a antibióticos é uma “ameaça global” à saúde pública, governos e indivíduos devem tomar medidas para retardar o processo de resistência das bactérias, sem uma ação urgente o mundo caminha rumo a uma era pós-antibiótico, em que infecções comuns e que são tratáveis há décadas podem voltar a matar (OMS, 2014).

3.3.3 Dados de infecções por MRSA no Brasil

De acordo com a Organização mundial da Saúde (OMS, 2017), se nada for feito até 2050, a resistência a antibióticos matará mais do que o câncer: dez milhões de pessoas devem morrer a cada ano, ou seja, uma pessoa em cada três segundos.

Para evitar que esse cenário aconteça, a OMS produziu um plano de combate a resistência antimicrobiana, e tem estimulado todos os países membros a elaborarem planos nacionais.

Dados em relação a incidência de Doenças transmitidas por alimentos (DTAs), são subnotificados e subestimados, não refletem o risco da contaminação dos alimentos (OLIVEIRA, 2012). Segundo o Ministério de Saúde (2018), *S.aureus* é a terceira causa de surtos de DTAs no Brasil, logo atrás de *Salmonella* e *E.coli*, demonstrando assim a sua relevância para a inocuidade de alimentos.

No período dos anos 2000 a 2017, segundo o Ministério da Saúde, houve 909 surtos de intoxicação estafilocócica, apresentando um total de 15.707 doentes. Das 909 notificações com 15.707 doentes por intoxicação causada pelo *S.aureus* no Brasil, 16,8% deste total tem como alimento veiculador o leite e derivados, 988 apresentaram causa inconclusiva e 3.068 doentes devido a ingestão de múltiplos alimentos, no qual não chegou a conclusão de um alimento em específico. No estado de Minas Gerais foram notificadas 81 ocorrências com 1164 doentes e em 14 dessas notificações a contaminação se deu pelo consumo de leite e derivados (BRASIL, 2018).

Segundo Carmo *et al.* (2002), 660 pessoas foram afetadas pela ingestão de toxinas estafilocócicas em diversos queijos no Estado de Minas Gerais entre os anos de 1995 a 2001, levando uma pessoa a óbito. De acordo com o Instituto Pan-Americano de Proteção dos Alimentos e Zoonoses, ocorreram 18 surtos notificados de intoxicação levando a 93 internações devido a ingestão de produtos lácteos entre os anos de 1993 e 2002.

Em Minas Gerais, há relatos de intoxicação alimentar estafilocócica, como os surtos de DTAs envolvendo o queijo Minas frescal, em que se identificou enterotoxinas estafilocócicas (CARMO *et al.*, 2002). Segundo dados da FUNED em Minas Gerais, entre os anos de 1995 a 2000, 12.800 pessoas foram intoxicadas e dessas 17 foram a óbito após o consumo de alimentos contaminados por enterotoxinas produzidas por *S.aureus*.

É importante salientar que o número de intoxicação estafilocócica no Brasil pode ser muito maior do que os dados apresentados, devido a subnotificação, falhas no sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) e até mesmo a notificação tardia.

3.4 Análise Sensorial

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) a análise sensorial é uma ciência que evoca, mede, analisa e interpreta as reações humanas frente às características dos alimentos e materiais, percebidas pelos cinco sentidos: paladar, olfato, tato, visão e audição (ABNT, 2014).

O teste de aceitação é utilizado para aferir subjetivamente, o quanto uma pessoa gosta ou desgosta de um produto. Na avaliação sensorial, a escala hedônica é amplamente utilizada, requer menor tempo de avaliação, é de fácil compreensão para o provador, além da possibilidade da sua utilização em grande número de estímulos sensoriais (TORRES, 2004).

Em testes de consumo, é de grande valia uma escala que possibilite a comparação direta de uma ou mais amostras em relação a uma referência, além de avaliar o grau de aceitabilidade do produto, a expressão das respostas hedônicas em desvios positivos ou negativos, contribui para que a precisão das respostas individuais sejam maiores (BERGARA-ALMEIDA, 2002).

As características sensoriais de um alimento são fatores importantes para que o consumidor aceite ou rejeite o produto. Em relação aos queijos, há diversos fatores que podem interferir na aceitação pelo consumidor entre eles destacam-se o modo de produção, tipo de fermento natural utilizado, além do tempo e temperatura da maturação (NÓBREGA, 2012).

A produção de queijo artesanal tem como objetivos, adquirir um produto que seja atrativo comercialmente, além de durável e financeiramente rentável, e que também apresente características sensoriais como sabor, aroma, textura e consistência diferenciada (FOX

et al., 2004).

Os queijos artesanais apresentam características diversas, e várias diferenças quando comparados com aqueles produzidos a partir do leite pasteurizado, principalmente o sabor e a riqueza microbiana do queijo artesanal que os tornam únicos (ARAÚJO, 2004).

3.5 Espectroscopia no infravermelho com transformada de *Fourier* e reflectância total atenuada

Realizar análises de caracterização dos queijos utilizando as análises físico-químicas e composição dos alimentos são extremamente trabalhosas, despendem tempo, e requererem mão de obra qualificada na realização das análises (VENTUROSO *et al.*, 2007). Assim, torna-se relevante o desenvolvimento de métodos de baixo custo, rápidos, confiáveis e padronizados com objetivo de determinar aspectos de qualidade dos alimentos, incluindo o queijo Minas artesanal.

A espectroscopia no infravermelho com transformada de *Fourier* (FTIR) é um método direto, confiável e rápido, possibilita a obtenção de informações específicas simultaneamente sobre diferentes critérios, principalmente na região de 3000-400 cm^{-1} , em que as bandas estão associadas a vibrações de grupos funcionais das moléculas (COATES, 2000). O FTIR vem sendo utilizado para medir a composição do queijo (RODRIGUEZ, KOCA, HAPER e ALVAREZ, 2006; UPRETI e METZGER, 2006), parâmetros de textura sensorial e instrumental (KAROUI *et al.*, 2006) além de determinar a origem geográfica do queijo. A espectroscopia é uma técnica que tem mostrado um grande potencial para obtenção rápida de informações sobre a composição química e os aspectos de maturação de queijos (MARINHO *et al.*, 2015, CURRÒ *et al.*, 2017).

O FTIR-ATR tem sido amplamente utilizado para investigar a composição de produtos lácteos, identificando bandas relacionadas a proteínas, gorduras, lactose e ácido láctico. Essa técnica também tem sido utilizada para caracterização do período de maturação de queijos, avaliando a sua composição, parâmetros sensoriais e de textura além da identificação geográfica (CURRÒ *et al.*, 2017; GONZÁLEZ-MARTÍN *et al.*, 2011; LERMA-GARCIA *et al.*, 2010).

Para avaliar o processo de maturação no queijo Cheddar, Irudayaraj e McMahon (1998), utilizaram o FTIR e conseguiram correlacionar o teor de gordura e proteína determinado pelos métodos clássicos. Guerzoni *et al.* (1999) estudaram os efeitos de diferentes tratamentos de leite no processo de maturação do queijo de cabra, obtendo resultados satisfatórios utilizando o FTIR.

Com o objetivo de classificar o queijo Italiano Pecorino, de acordo com o método de fabricação e o tempo de maturação, Lerma-Garcia *et al.* (2010) utilizaram a técnica FTIR, obtendo resultados excelentes, conseguindo então classificar os queijos de acordo com as características químicas.

Martin del campo *et al.* (2007) através do FTIR conseguiram avaliar o potencial da espectroscopia de infravermelho na caracterização de queijos *camembert* durante a maturação e identificar quais frações da matriz de queijos são as mais pertinentes para análise. Burns e Ciurczak (1992) utilizaram a espectroscopia com o objetivo de avaliar e classificar o período de maturação dos queijos Edam e Gouda, e através do FTIR conseguiram agrupar de acordo com o tempo de maturação.

Não há registros na literatura sobre a utilização do FTIR-ATR para caracterizar o queijo industrializado e Minas artesanal do Serro, o uso desta ferramenta evidencia um grande salto para avaliar aspectos da caracterização físico-química, por ser uma metodologia de baixo custo, eficaz, rápida e não destrutiva.

4 REFERÊNCIA

AMARANTE, J. O. A. **Regiões demarcadas**. Disponível em: < <https://www.amarantevinhos.com.br/outras-paix%C3%B5es/minasArtesanal/regi%C3%B5es-demarcadas>.> Acesso em: 23 jun. 2018.

ANDRADE, A. P. C. **Identificação bioquímica, molecular e pesquisa de genes codificadores de enterotoxinas de *Staphylococcus spp.* isolados de queijo de coalho**. 2009. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

ARAÚJO, G. B. Detecção de resíduo de antibiótico em leite in natura em laticínio sob inspeção federal. **Scientia Plena**, v. 11, n. 4, p. 1-6, 2015.

ARAUJO, T. F. **Caracterização e identificação de *Enterococcus spp.* isolados do fermento endógeno utilizado na fabricação do queijo minas artesanal da região da Canastra, Minas Gerais**. 2008. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ARAÚJO, R. A. B. M. **Diagnóstico socioeconômico, cultural e avaliação dos parâmetros físicoquímicos e microbiológicos do Queijo Minas Artesanal da região de Araxá**. Viçosa: UFV. 2004. 136p. Dissertação de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, ABNT. **NBR ISO 5492**: análise sensorial, vocabulário. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: < <http://www.abntcatalogo.com.br>.> Acesso em: 17 Jul. 2018.

BERGARA-ALMEIDA, S., APARECIDA, M., & DA SILVA, A. P. Hedonic scale with reference: Performance in obtaining predictive models. **Food Quality and Preference**, p. 57–64. disponível em :<[https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(01\)00057-X](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(01)00057-X)> Acesso em 22 ago. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos–VE-DTA**. 2018. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/17/Apresentacao-Surtos-DTA-2018.pdf>>. Acesso em: 14 ago. 2018.

BRASIL. Portaria n. 2349, de 14 de setembro de 2017. Classificação de risco dos agentes biológicos, Brasília,DF, mar. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Proporção de agentes etiológicos identificados nos surtos de DTA**. Brasil, 2007 a 2017. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/.../Apresentacao-Surtos-DTA-2018.pdf>. A> Acesso em: 04 Jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Planilha informatizada de investigação de surtos**.Disponível em :< <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/doencas-transmitidas-por-alimentos/situacao-epidemiologicas>> Acesso em: 04 Jul. 2018.

BORELLI, B. M. *et al.* Enterotoxigenic *Staphylococcus spp.* and other microbial contaminants during production of Canastra cheese, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 545-550, 2006.

BORGES, M.F. *et al.* Micro-organismos patogênicos e indicadores em queijo de coalho produzido no Estado do Ceará, Brasil. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 31-40, 2003.

BORGES, M. F. *et al.* Perfil de contaminação por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho. **Ciência Rural**, v. 38, n. 5, p. 1431-1438, 2008.

BRANT, L. M. F., FONSECA, L. M., SILVA, M. C. C. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-Minas artesanal do Serro-MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.6, p. 1570-1574, 2007.

BRUMADO, E. C. C. **Impacto do tipo de fermento endógeno na qualidade e tempo de maturação de queijo minas artesanal produzido em propriedades cadastradas pelo IMA (Instituto Mineiro de Agropecuária) na região do Serro-MG.** 2016. 158 f. Tese (Doutorado Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W. Handbook of near infrared analysis. New York: **Dekker**, 1992.

CALFEE DP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci, and other Gram-positives in healthcare. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v.22, n.4, p. 385-394, 2012.

CARVALHO J.D.G.; VIOTTO W.H.; KUAYE A.Y. The quality of minas frescal cheese produced by different technological processes. **Food Control**, v. 18, p. 262–267, 2007.

CARMO, L.S. *et al.* Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas cheese and raw milk in Brazil. **Food Microbiology**, London, v.19, n.1, p.9- 14, 2002.

CHA, J.; VAKULENKO, S. B. MOBASHERY, S. Characterization of the b-lactam antibiotic sensor domain of the MecR1 signal sensor/transducer protein from Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Clinical Biochemistry**, Montreal, v. 46, n. 3, p. 7822-7831, 2007.

CHAMBERS HF. Methicillin resistance in *Staphylococci*: molecular and biochemical basis and clinical implications. **Clinical Microbiology Reviews**, p.781-91,1997.

CHEN M, IRUDAYARAJ J. Sampling technique for cheese analysis by FTIR spectroscopy. **Journal of Food Science**, v. 63, n.1, p. 96–9, 1998.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE – CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**; Fifteenth Informational Supplement. CLSI document M100 – S15 ISBN [1-56238-556-9].

COATES, J. Interpretation of infrared spectra, a practical approach. **Encyclopedia of Analytical Chemistry**. R. R. Meyers, John Wiley and Sons, Chichester, UK, 2000.

COSTA, G. M. **Mamite bovina em rebanhos leiteiros da região sul do estado de Minas Gerais**. 2008. 123f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

COSTA, J. C. B. **Avaliação do perfil de susceptibilidade a antimicrobianos e presença dos genes *mecA* e *qacA/B* em *Staphylococcus* spp. isolados de queijo minas frescal**. 2010. 90 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2010.

CORREA, C. P. A; RIBAS M. M. F.; MADRONA G. S. Avaliação das condições higiênico sanitárias do leite cru em pequenas propriedades do município de Bom Sucesso- PR. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 03, n 02, p. 21-28, 2009.

CURRÒ, S. *et al.* Technical note: Feasibility of near infrared transmittance spectroscopy to predict cheese ripeness. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 11, 2017.

EMATER. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. **Produção de Queijo Minas Artesanal ganha reforço com o atendimento a 600 produtores familiares no Estado**. 24 fev. 2017. Disponível em: <http://www.emater.mg.gov.br/portal.cgi?flagweb=novosite_pagina_interna&id=20360> Acesso em: 03 jun. 2018.

EMATER. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. **Programa Queijo Minas Artesanal/Mapa do Queijo**. Disponível em: <[http://www.emater.mg.gov.br/portal.cgi?flagweb=site_pgn_downloads_vert&grupo=135\\$men u=59](http://www.emater.mg.gov.br/portal.cgi?flagweb=site_pgn_downloads_vert&grupo=135$men u=59)>. Acesso em: 05 fev. 2017.

EMBRAPA. **Características Físico químicas do queijo minas artesanal do Serro com diferentes períodos de maturação**. Disponível em :< <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/151177/1/280.pdf>> Acesso em: 02 ago. 2018.

FEITOSA, T. *et al.* Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e micro-organismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.162-165, 2003.

FERNANDEZ-GARCIA, E., M.; CARBONELL, M. NUNEZ. Volatile fraction and sensory characteristics of Manchego cheese. I. Comparison of raw and pasteurized milk cheese. **Journal of dairy research**, v. 69, p. 579–593, 2002.

FERREIRA, G. B. *et al.* Pesquisa de *Staphylococcus aureus* em queijos tipo “Minas frescal” comercializados na região do triângulo mineiro. **Revista Baiana de Saúde Pública**. Salvador, v.34, n.3, p.575-589. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/0100-0233/2010/v34n3/a2066.pdf>>. Acesso em: 18 Jul. 2018.

FIEMING *et al.*, QUANTIFICAÇÃO E RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Staphylococcus* ISOLADOS DE QUEIJOS. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, 2010.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Volume 1. General Aspects. **Elsevier Academic Press**, 3 .ed p. 617, 2004.

FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. **Microrganismos patogênicos de importância em alimentos**. Editora Atheneu. São Paulo. 2003.

GONZÁLEZ-MARTÍN, M. I. *et al.* Prediction of sensory attributes of cheese by nearinfrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 256–263, 2011.

GUNDOGAN, N.; EBRU AVCI. Occurrence and antibiotic resistance of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in raw milk and dairy products in Turkey. **International Journal of Dairy Technology**, v.67, n.4, 2014.

HICKEY, D. K., K. N.; KILCAWLEY, T. P.; BERESFORD, M. G. WILKINSON. Lipolysis in cheddar cheese made from raw, thermized, and pasteurized milks. **Journal of Dairy Science** , v. 90, p.47–56, 2007.

IMA- INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Queijo minas artesanal. **Detalhes de Produtores de queijo minas artesanal**. on-line, 11 maio 2018. Disponível em: < http://www.ima.mg.gov.br/material-curso-cfo-cfoc/doc_details/680-produtoresqueijo-minas-artesanal>. Acesso em: 26 maio 2018.

IPHAN. Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional. Dossiê IPHAN 11: **Modo artesanal de fazer queijo de Minas: Serro, Serra da Canastra e Serra do Salitre /Alto Paranaíba**. In: Os territórios do queijo artesanal de Minas (O território do queijo do Serro) – Brasília, Distrito Federal, 2014.

JAY, J. M. *Microbiologia de alimentos*. 6 ed. Porto Alegre: **Artmed**, p. 711, 2005.

KARAHAN, M.; AÇIK, M.N.; CETINKAYA, B. Investigation of toxin genes by polymerase chain reaction in *Staphylococcus aureus* strains isolate from bovine mastitis in Turkey.

Foodborne Pathogens and Disease, v. 6, n. 8, p. 1029-1035, 2009.

LAPINHA D. *Staphylococcus spp.* isolados de queijo artesanal da Serra da Canastra: identificação bioquímica e molecular, detecção de genes para produção de toxinas, susceptibilidade a antimicrobianos e atividade antagonista in vitro frente a *Lactobacillus spp.* Dissertação (Mestrado Ciência animal). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

LE LOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetic and Molecular Research**, v. 2, n. 1, p. 63-76, 2003.

LERMA-GARCÍA, J. M. *et al.* Classification of pecorino cheeses produced in Italy according to their ripening time and manufacturing technique using Fourier transform infrared spectroscopy. **American Dairy Science Association**, 2010.

LICITRA G. World wide traditional cheeses: Banned for business? **Dairy Science and Technology**. p, 90, 357-37, 2010.

LOGUERCIO, A. P.; ALEIXO, J. A. G. Microbiologia de queijo tipo Minas frescal produzido artesanalmente. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, p. 1063-1067, 2001.

MACHADO, E. C. *et al.* Características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal do Serro, Minas Gerais. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 516-521, 2004.

MARINHO, M. T. *et al.* Antioxidant effect of dehydrated rosemary leaves in ripened semi-hard cheese: A study using coupled TG–DSC–FTIR (EGA). **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 2, p. 1023–1028, 2015.

MARTÍN-DEL-CAMPO, S.T. *et al.* Middle infrared spectroscopy characterization of ripening stages of Camembert-type cheeses. **International Dairy Journal**, v.17, p. 35–845, 2007.

MARTINS, J.M. **Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo minas artesanal da região do Serro**. 2006. 158p. Tese (Doutorado, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2006.

MEHLI *et al.* The prevalence, genetic diversity and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* in milk, whey, and cheese from artisan farm dairies. **International Dairy Journal**.2017. Disponível em :< <https://www-sciencedirect.ez36.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0958694616303090?via%3Dihub>. Acesso em: 23 jun. 2018.

MENESES, J. N. C. de. Queijo artesanal de Minas: patrimônio cultural do Brasil. Belo Horizonte: Ministério da cultura, 2006. p.139. (**Dossiê interpretativo, v1**)

MILKPOINT, 2017. **Produção de queijo minas artesanal ganha reforço com o atendimento de produtores familiares**. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/industria/cadeia-do-leite/giro-de-noticias/mg-producao-de-queijo-minasartesanal-ganhareforco-com-o-atendimento-de-produtores-familiares-104224n.aspx>>. Acesso em: 04 jul. 2018.

MILKPOINT. **Abiq: mercado de queijos tem alto potencial de crescimento no Brasil**, 2017. Disponível em: < <https://www.milkpoint.com.br/noticias-e-mercado/gironoticias/abiq-mercado-de-queijos-tem-alto-potencial-de-crescimento-no-brasil105515n.aspx>>. Acesso em: 31 maio 2018.

MIMICA, M. J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Brazil. **The New Microbiologica**, v. 36, n. 01, p. 107, jan. 2012.

MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. **Decreto nº 44.864**, de 1 de agosto de 2008. Altera o regulamento da Lei nº 14.185 de 31 de janeiro de 2002 que dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal. Belo Horizonte: Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais, 2002. Disponível em:< https://www.almg.gov.br/consulte/legislacao/completa/completa.html?tipo=DEC&num=44864&comp=&ano=2008&aba=js_textoOriginal#texto >. Acesso em: 10 ago. 2018.

MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais. Decreto nº 42.645, de 5 de junho de 2002. **Regulamento da Lei nº 14.185 de 31 de janeiro de 2002 que dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal**. Belo Horizonte: Assembleia Legislativa do Estado de Minas Gerais, 2002. Disponível em:<http://ns.ima.mg.gov.br/intranet/nova/gce/outras_documentos/42645.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2018.

MORAES, P. M. G. N. *et al.* Foodborne Pathogens and Microbiological Characteristics of Raw Milk Soft Cheese Produced and on Retail Sale in Brazil. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 6, n. 2, p.245-249, 2009.

MURPHY, M. *et al.* A conjoint analysis of Irish consumer preferences for farmhouse cheese. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 106, p. 288–300, 2004.

NEUSELY *et al.*, **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5.ed. São Paulo, 2017.

NETTO, M. M. A geografia do queijo minas artesanal. Belo Horizonte (MG): M.M.N., 2014.

NOBREGA, J. E. da. **Biodiversidade microbiana, descritores físico-químicos e sensoriais dos queijos artesanais fabricados nas regiões da Serra da Canastra e do Serro, Minas Gerais**. 2012. 127p. Tese de doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 2012.

OLIVEIRA *et al.* Presença de *Staphylococcus aureus* em queijos artesanais comercializados na cidade de Uruaçu- Goiás. **Ciências Humanas, saúde e tecnologia**. 2015.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Resistência Antimicrobiana**. Geneva: World Health Organization, 2005.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Relatório Global de Resistência a antimicrobianos**. Geneva: World Health Organization; 2014. Disponível em :< https://www.paho.org/bra.../index.php?option=com_content&view=article&id=5592:novos-dados-revelam-niveis-elevados-de-resistencia-aos-antibioticos-em-todo-o-mundo&Itemid=812> Acesso em: 03 fev. 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Plano de combate a resistência antimicrobiana**. Disponível em :< <http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/42953-ministerio-da-saude-desenvolve-acoes-para-buscar-respostas-contraresistencia-aos-antimicrobianos>>. Acesso em: 04 Jul. 2018.

PAIN R, LORENZINI E. Estratégias para prevenção da resistência bacteriana. **Revista Cuidarte**. 2014; p.757-64. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.15649/cuidarte.v5i2.88>> Acesso em: 03 Jul. 2018.

PALERMO-NETO, J. & ALMEIDA, R.T. Antimicrobianos como aditivos em animais de produção. In: SPINOZA, H.S.; GÓRNIK, S.L. & BERNARDI, M.M., eds. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p.641-658, 2006.

PERIN, L.M. *et al.* Bacterial ecology of artisanal Minas cheeses assessed by culture-dependent and independent methods. **Food Microbiology**, v. 65, p. 160-169, 2017.

PINTO, M.S. **Efeito da Microbiota endógena da nisina sobre *listeria* sp. e *staphylococcus aureus* em queijo Minas artesanal do Serro.** 2008. 84f. Tese (doutorado em Ciência e tecnologia dos alimentos) - Universidade federal de viçosa, 2008.

PINTO, M. S. **Diagnóstico socioeconômico, cultural e avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do Queijo Minas Artesanal do Serro.** 2004. 134 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

PORTAL DO QUEIJO. **O crescimento do Mercado de queijos no Brasil.** 2016. Disponível em: <<http://portaldoqueijo.com.br/noticias/2016/11/11/crescimento-domercado-de-queijos-no-brasil>> Acesso em: 10 out. 2017.

RAPINI, L. S.; TEIXEIRA, J. P.; MARTINS, N. S.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; SOUZA, M. R.; PENNA, C. F. A. M. Perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* sp isoladas de queijo tipo coalho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** v. 56, p. 130-133, 2004.

REHMAN, S.-U.; MCSWEENEY, P. L. H.; BANKS, J. M.; BRECHANY, E. Y.; MUIR, D. D.; FOX, P. F. Ripening of Cheddar cheese made from blends of raw and pasteurized milk. **Int. Journal of Dairy Science.** v. 10, p. 33–44, 2000.

RESENDE, M F. S. **Queijo Minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude e do nível de cadastramento das queijarias nas características físico-químicas e microbiológicas.** 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Inspeção de produtos de Origem Animal) - Escola de Veterinária, Universidade de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 2010.

REZENDE, P. H. L.; MENDONÇA, E.P.; MELO, R.T. *et al.* Aspectos sanitarios do queijo Minas artesanal comercializado em feiras-livres. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.65, n.377, p.36-42, 2010.

RICH, M.; DEIGHTON, L.; ROBERTS, L. Clindamycin resistance in Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from animals. **Veterinary Microbiology**, v.111, p.237-240, 2005.

RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; KOCA, N.; HARPER, W. J.; ALVAREZ, V. B. Rapid determination of swiss cheese composition by Fourier Transform Infrared/Attenuated Total Reflectance Spectroscopy. **Journal International of Dairy Science**, Campaign, v. 89, n. 5, p.1407-1412, 2006.

R. KAROUI, *et al.* Espectroscopia de infravermelho médio: uma ferramenta para a determinação de parâmetros químicos em queijos Emmentais produzidos durante o inverno. *Lait*, p. 83 – 97, 2006.

SABISTON. **Tratado de cirurgia: A base biológica da prática cirúrgica moderna**. 19.ed. Saunders. Elsevier.2013.

SILVA, J. G.; ABREU, L. R.; MAGALHÃES, F. A. R. et al. Características físico-químicas do Queijo Minas Artesanal da Canastra. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”** (ILCT). Juiz de Fora. MG. v. 66. n. 380. p. 16-2, 2011.

SILVA, M. C. D. *et al.* Influência dos procedimentos de fabricação nas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de queijo de coalho. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.69, n.2, p.214-21, 2010.

SILAPAJARN O, Boyd CE. Effects of channel catfish farming on water quality and flow in an Alabama Stream. **Reviews in Fisheries Science**, p.109-140, 2005.

SILVEIRA P. R.; ABREU, R. Rendimento e composição físico-química do queijo prato elaborado com leite pasteurizado pelo sistema HTST e injeção direta de vapor. **Science and Agrotechnology**, v. 27, n. 6, Lavras, 2003.

SOBRAL *et al.* Principais defeitos em queijo Minas Artesanal: Uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, Juiz de Fora, v. 72, n. 2, p. 108-120, abr/jun, 2017.

SUNDE, M.; NORSTROM, M. The prevalence of associations between and conjugal transfer of antibiotic resistance genes in Escherichia coli isolated from Norwegian meat and meat products. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, p.741-747, 2006.

UPRETI, P.; METZGER, L.E. Influence of Calcium and Phosphorus, Lactose, and Salt-to-Moisture Ratio on Cheddar Cheese Quality: Manufacture and Composition. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.420-428, 2006.

VAN LEUVEN, I.; VAN CAELENBERG, T.; DIRINCK, P. Aroma characterization of Gouda-type cheeses. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 790–800, 2008.

VARGAS, O. L. *et al.* Características de origens para queijos naturais de Minas Gerais: municípios do Serro e São Roque de Minas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 53, n. 301-303, p. 19-49, 1998.

VASUDEVAN, P.; NAIR, M.K.M.; ANNAMALAI, T.A. *et al.* Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. **Veterinary Microbiology**, v.92, p.179-185, 2003.

VERAS, J. F. *et al.* Levantamento de surtos de toxinfecção alimentar envolvendo leite e produtos derivados no Estado de Minas Gerais, Brasil. In: **VII Congresso Brasileiro de Higienistas de alimentos e I Congresso Latino-Americano de Higienistas de Alimentos**, Belo Horizonte, 2004.

VIANA, F. R OLIVEIRA, A. L.; CARMO, L. S., ROSA C. A. Occurrence of coagulase-positive *Staphylococci*, microbial indicators and physical–chemical characteristics of traditional semihard cheese produced in Brazil. **Journal of Dairy Technology**. v. 62, n.3. 2009.

VINHA, M. B. *et al.* Fatores socioeconômicos da produção de queijo minas frescal em agroindústrias familiares de Viçosa, MG. **Ciência Rural**, v. 40, n. 9, p. 2023-2029, 2010.

TAMBEKAR, D.H.; MUNDHADA, R.H. Bacteriological quality of salad vegetables sold in Amravati City (India). **Journal of Biological Sciences**, 6, 28-30. 2006.

TORRES, A. B. N. *et al.* Análise sensorial e físico-química do vinho de caju (*Anacardium occidentale*). In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTIFICA, 2004, São José dos Campos. **Anais...** São José dos Campos: UNIVAP, 2004.

VENTUROSOSO *et al.* Determinação da composição físico-química de produtos lácteos: estudo exploratório de comparação dos resultados obtidos por metodologia oficial e por ultra-som. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** .pp.607-613, 2007. Disponível em:<. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322007000400014>.> Acesso em 23 de ago. de 2018.

WILLIAMS, A. G. WITHER, S. E. Microbiological characterisation of artisanal farmhouse cheeses manufactured in Scotland. **International Journal of Dairy Technology**, v. 63, n. 3, 2010.

CAPÍTULO 2 - OCORRÊNCIA DE *Staphylococcus* COAGULASE POSITIVA RESISTENTE A ANTIBIÓTICOS EM QUEIJO MINAS ARTESANAL

RESUMO

A resistência antimicrobiana é agravada pelo uso indevido e acentuado de antibióticos tanto na prática da medicina humana quanto na veterinária, as condições e práticas de higiene precárias nos hospitais e na cadeia alimentar ajudam na transmissão de micro-organismos resistentes, levando a diminuição da efetividade dos antibióticos. Com o objetivo de avaliar a ocorrência de isolados de *S. aureus* coagulase positiva resistente a antibióticos em queijos Minas artesanal (QMA), foram identificados 294 cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva, provenientes de 35 QMA das regiões da Canastra, Araxá, Serro, Serra do Salitre, Campo das Vertentes e Cerrado. A população de *Staphylococcus* coagulase positiva, foi enumerada utilizando ágar Baird Parker, e as colônias positivas para o teste de coagulase foram selecionadas e testadas para suscetibilidade a 11 antibióticos, utilizando o teste de difusão em disco. Como resultados, os isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva apresentaram elevado índice de resistência antimicrobiana a oxacilina, clindamicina e cefoxitina. Dos 106 dos isolados foram resistentes a pelo menos 2 antibióticos, e 73 dos isolados foram resistentes a mais de seis antibióticos, demonstrando a disseminação da resistência antimicrobiana no queijo Minas artesanal.

Palavras Chave: Antibiograma. Bactéria gram - positiva. MRSA. Multirresistência.

ABSTRACT

The antimicrobial resistance is aggravated by improper and accentuated use of antibiotics both on human and veterinary medicine practices. Poor conditions and precarious hygiene practices on both hospitals and food chain help in transmitting resistant microorganisms, leading to a decreased antibiotics effectiveness. In order to evaluate the occurrence of antibiotic resistant isolates of *S. aureus* coagulase positive on artisanal minas cheeses (AMC), 294 strains of coagulase positive *Staphylococcus* were identified from 35 HMC from the regions of Canastra, Araxá, Serro, Serra do Salitre, Campo das Vertentes and Cerrado. The coagulase positive *staphylococcus* population was enumerated using Baird Parker plating and the colonies that were positive to the coagulase test were selected and tested for susceptibility to 11 antibiotics using the disc diffusion test. As result, the coagulase positive *Staphylococcus* isolates presented a high rate of antimicrobial resistance to oxacillin, clindamycin and cefoxitin. Of the isolates, 106 were resistant to at least 2 antibiotics and 73 were resistant to more than six antibiotics, showing the dissemination of antimicrobial resistance in artisanal Minas cheese.

Keywords: Antibiogram. Gram - positive bacteria. MRSA. Multiresistance.

1 INTRODUÇÃO

O queijo Minas artesanal (QMA), produto produzido com de leite cru, integra um conjunto simbólico visto como tradição da cultura mineira. Seu modo de fabricação é considerado um Patrimônio Imaterial pelo Instituto do Patrimônio Histórico Nacional – IPHAN (MENESES, 2006).

O Estado de Minas Gerais é considerado o maior produtor de queijo artesanal, atualmente sete regiões são descritas, sendo elas: Serra da Canastra, Araxá, Cerrado, Serra do Salitre, Serro, Campo das Vertentes e Triângulo Mineiro. No estado o queijo é fonte de renda para cerca de 30 mil famílias em mais de 600 municípios, produzindo aproximadamente 220 mil toneladas ao ano (EMATER, 2017; MILKPOINT, 2017; IMA, 2018).

A fabricação de queijos a partir de leite cru, apesar da sua importância histórica e econômica, merece cuidados especiais devido a possibilidade de veiculação de micro-organismos patogênicos além de toxinas, representando importante questão de saúde pública (OLIVEIRA, *et al.*, 2009).

Dentre os micro-organismos se destaca o gênero *Staphylococcus spp.* sendo uma causa frequente de doenças transmitidas por alimentos que vem se tornando uma ameaça à saúde pública (CHOE *et al.* 2018). São classificados como coagulase e catalase positivo, anaeróbio facultativo, oxidase negativo e consideradas potenciais espécies produtoras de enterotoxina alimentar, podendo causar intoxicação estafilocócica (ICMSF, 1983; QUINN *et al.* 2005).

Os *Staphylococcus* coagulase positivo são *S.aureus*, *S.intermedius*, *S.delphini* e *S.scleiferi* subsp. *coagulans*. Essas espécies são consideradas patógenos potencialmente sérios, e por essa razão, a produção de coagulase é uma indicação de patogenicidade (SCHLEIFER e BELL, 2009), sendo o *S.aureus* subsp. *aureus* o patógeno mais comum, entre os estafilococos coagulase positivos.

De acordo com a portaria nº 2.349, de 14 de setembro de 2017, *S.aureus* é classificado no grupo de risco II, ou seja inclui as doenças de perigo moderado, usualmente de curta duração e sem ameaças de morte ou sequelas, com sintomas auto limitados, mas que causam severo desconforto (BRASIL, 2017).

Staphylococcus spp. são as bactérias de interesse clínico que tem se destacado pela resistência aos antibióticos. Além disso, a cada novo antibiótico, têm surgido linhagens de bactérias resistentes, com o agravante do efeito cumulativo e a consequente multirresistência (MULLER, 2003).

Intoxicação alimentar estafilocócica é uma doença gastrointestinal causada pela ingestão de alimentos contaminados contendo enterotoxinas produzidas por bactérias pertencentes a este gênero. Essas enterotoxinas exibem atividades super-antigênicas e são proteínas termicamente estáveis que não podem ser destruídas sob cozimento inadequado, gerando sintomas desde os mais brandos como vômitos e diarreias até doenças

graves (MURRAY *et al.*, 2014).

De acordo com o Ministério da Saúde a proporção de agentes etiológicos identificados nos surtos de DTAs no Brasil, entre 2007 a 2017, foi de 95,9% para bactérias responsáveis pelas DTAs, destacando-se o *S.aureus* em terceiro lugar, logo atrás de *E. coli* e *Salmonella* (BRASIL, 2018).

Uma das maiores preocupações enfrentadas pela saúde pública nos últimos anos é a capacidade do *S.aureus* adquirir resistência e multirresistência a antibióticos, prejudicando o tratamento das infecções (MIMICA, 2012). As infecções que acometem o gado, como a mastite que é uma infecção no úbere do animal, causada por *S.aureus*, contaminando leite e consequentemente todos os seus derivados, como o QMA (DEMEU *et al.*, 2016).

A resistência de *S. aureus* a antibióticos surgiu há décadas, tendo como fator determinante o uso disseminado e muitas vezes inadequado de antibióticos no gado. Segundo a OMS se nada for feito até 2050 cerca de 10 milhões de pessoas virão a óbito por ano no mundo devido a resistência a antibióticos, isso é mais que a morte por câncer, significa um óbito a cada 3 segundos. Em relatório global sobre resistência a antibióticos a OMS alerta sobre a resistência generalizada aos antibióticos que são usados para combater bactérias que causam várias infecções (OMS, 2014).

Apesar de restrições e práticas para tentar diminuir o uso de antibióticos, a tendência de aumento da resistência aos antibióticos continua (EFSA, 2009; NSCFS, 2015). O *S. aureus* resistente à metilicina (MRSA) é encontrado em suínos e em áreas com alta densidade de bovinos. A probabilidade de transferir MRSA para humanos é alta, principalmente em leite cru e queijos produzidos sem tratamento térmico, pois pode conter altas populações dessas bactérias resistente (LOCATELLI *et al.*, 2016).

O QMA não é submetido a nenhum tratamento térmico durante a produção e maturação para garantir a segurança antes do seu consumo, a contaminação se deve ao manuseio inadequado durante o processamento, condições inadequadas de armazenamento, uso de leite contaminado ou mesmo devido às características físico-químicas da matriz do queijo, como pH elevado, alta atividade de água e baixas concentrações de sal, que são favoráveis ao crescimento desses micro-organismos (VIANA *et al.*, 2009).

No período dos anos 2000 a 2017 de acordo com Ministério da Saúde, no Brasil houve 909 notificações de intoxicação estafilocócica, apresentando como agente causador o *S.aureus*, totalizando 15.707 doentes. No estado de Minas Gerais foram 81 ocorrências com 1164 doentes e 14 dessas notificações (91 doentes) foi proveniente da contaminação pelo consumo de leite e derivados (BRASIL, 2018).

Relatos são descritos na literatura acerca de intoxicações estafilocócicas relacionadas ao consumo de queijos artesanais e produtos lácteos com detecção dos genes de enterotoxinas (SE), como os estudos de Carfora *et al.*, 2015; Sabionii *et al.* 1988; Rosengren *et al.* 2010; Veras

et al. 2003. Os genes da enterotoxina (SE) estão localizados principalmente em diferentes tipos de elementos genéticos móveis, e a distribuição desses elementos pode modificar o patógeno e, assim, contribuir para sua evolução (ALIBAYOV *et al.* 2014).

Diante do exposto o objetivo do trabalho é avaliar o perfil de resistência a antibióticos de *Staphylococcus* coagulase positiva isolados do queijo artesanal de Minas Gerais.

2 METODOLOGIA

Um total de 35 amostras de queijo Minas artesanal foram adquiridos no mercado central na cidade de Belo Horizonte. Foram selecionados produtos disponíveis à venda de diferentes regiões geográficas de Minas Gerais: Canastra, Araxá, Serro, Serra do Salitre, Campo das Vertentes e Cerrado.

Os queijos foram transportados na condição em que se encontravam para venda (em caixas isotérmicas ou em temperatura ambiente) até o laboratório de Higiene dos Alimentos, Departamento de Nutrição, da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, onde foram realizadas as análises.

2.1 Enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva presente no queijo Minas artesanal

A enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva foi realizada de acordo com norma da ABNT NBR ISO 6888-1/2016.

Para o preparo da amostra, 25g do queijo foi pesada e homogeneizada em homogeneizador tipo “Stomacher” por 60 segundos utilizando 225 mL de água peptonada 0,1% estéril (Difco, Detroit, USA).

Após a homogeneização, realizou-se diluição seriada decimal (-1 a -5) e em seguida o plaqueamento de 0,1 mL de cada diluição em superfície de Ágar Baird-Parker (BP) (Acumedia, USA), suplementado com emulsão de gema de ovo e telurito de potássio 1% com incubação a 37°C, por 48 horas.

Foram enumeradas as colônias típicas (negras, pequenas, lisas, rodeadas por uma zona opaca e/ou um halo de degradação da lecitina) e atípicas (negras, sem halo). A partir desta etapa, as colônias foram submetidas à prova de catalase com peróxido de hidrogênio a 10% e as positivas submetidas ao teste de coagulase com plasma de coelho liofilizado (Larboclin, Brasil) incubadas em banho maria por um período de 6 horas.

Após identificação e positividade para o teste de coagulase, dez colônias representativas de cada queijo foram isoladas e repicadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) (Acumedia, USA), incubado a 35°C por 24 horas e então os isolados foram congelados a - 80°C para posterior caracterização do perfil a sensibilidade de antibióticos (ANVISA, 2006).

2.2 Teste de Suscetibilidade aos Antibióticos – Método de difusão em disco de Kirby & Bauer

Os isolados positivos para coagulase e catalase de cada queijo, foram repicados em caldo Brain heart infusion (BHI) (Acumedia, USA), e a cultura foi diluída em solução salina (NaCl) a 0,85% (p/v) até obter turvação correspondente a solução padrão 0,5 da escala de MacFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml).

Utilizou-se swab de algodão estéril, que foi mergulhado na cultura padronizada e friccionado nas placas de Petri contendo o meio Ágar Muller-Hinton (Himedia) a fim de se obter um crescimento denso e confluyente.

Em seguida foram depositados 11 discos de antibióticos (Interlab, Brasil), cuja escolha se deu de acordo com a recomendação da Anvisa para infecção estafilocócica (ANVISA, 2017), sendo eles: Sulfazotrim (25 µg), Cefoxitina (30 µg), ceftriaxona (30 µg), cefepime (30 µg), cefotaxima (30µg), oxacilina (1µg), clindamicina (2 µg), cefuroxima(30 µg), ceftadzima (30 µg), ciprofloxacina (5 µg) e cefaclor (30 µg).

Os discos foram dispostos em pontos determinados da placa com o auxílio de uma pinça estéril, sendo pressionado levemente sobre o meio e então incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 16 ± 2 h. Após o período de incubação foi realizada a leitura dos halos formados ao redor de cada antibióticos, comparando com os valores recomendados pela The Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018). Para o controle do teste de disco difusão foi utilizado a cepa *S. aureus* ATCC 25923.

2.3 Análise estatística

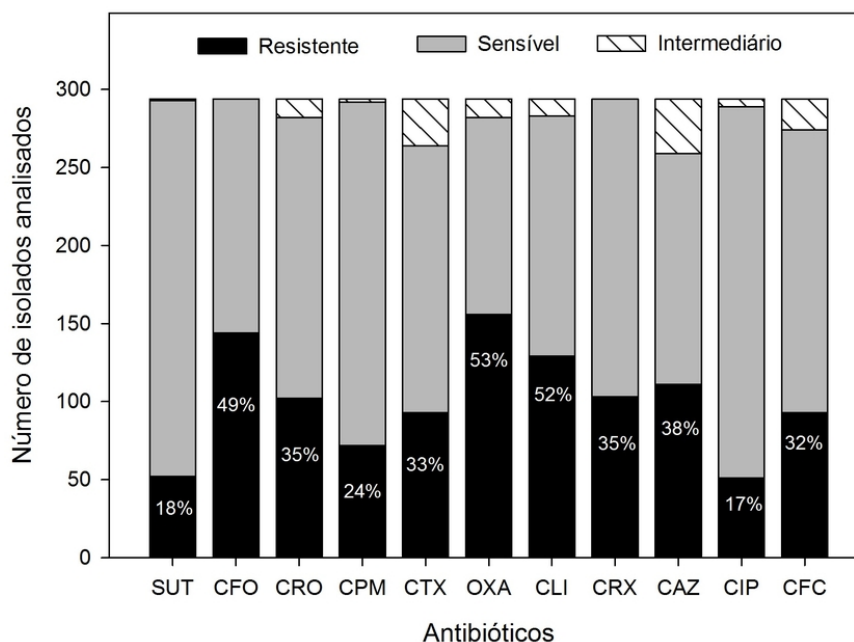
Os dados foram analisados por meio de estatística descrita considerando o perfil de resistência a antibióticos. Foram utilizados os softwares Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation) e Sigmaplot for Windows versão 11 (Systat Software, Inc).

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

Das 35 amostras analisadas provenientes das regiões da Canastra, Araxá, Serro, Serra do Salitre, Campo das Vertentes e Cerrado, foram isolados e identificados 294 *Staphylococcus* coagulase positiva. Os resultados das análises revelaram que em 85,7% das amostras analisadas, a população de *Staphylococcus* coagulase positiva estava acima de 1.000 UFC/g de queijo, valor este estabelecido como limite máximo permitido pela legislação sanitária (ANVISA, 2001).

De modo geral, os 294 isolados de *Staphylococcus spp.* apresentaram elevado percentual de resistência aos antibióticos testados (Figura 2).

Figura 2 – Perfil de resistência de *Staphylococcus* coagulase positiva isolados de queijo Minas artesanal aos antibióticos Sulfazotrim (SUT), Cefoxitina (CFO), Ceftriaxona (CRO), Cefepime (CPM), Cefotaxima (CTX), Oxacilina (OXA), Clindamicina (CLI), Cefuroxima (CRX), Ceftazidima (CAZ), Ciprofloxacina (CIP) e Cefaclor (CFC)



A oxacilina e a cefoxitina têm sido utilizadas para avaliar a resistência à meticilina (ANVISA, 2005). Os resultados encontrados para esses antibióticos, apresentam alta porcentagem de resistência, 53 e 49% respectivamente, evidenciando a provável disseminação da resistência a meticilina na cadeia do queijo Minas artesanal.

De acordo com os resultados, pode-se perceber que grande parte dos antibióticos utilizados do grupo das penicilinas apresentou, de modo geral, elevados percentuais de resistência: oxacilina (53,01%), Clindamicina (52%) e cefoxitina (49%). Estes resultados estão de acordo com outros estudos que vêm documentando a presença de cepas de estafilococos resistentes aos antibióticos em diversos alimentos, inclusive produtos lácteos (COSTA, 2010; LAPINHA, 2012; PEREIRA *et al.*, 2009).

Lapinha (2012), analisou o perfil de sensibilidade de *Staphylococcus*, isolados no queijo da Serra da Canastra e também encontrou valores elevados de resistência para ambos antibióticos, exceto pela cefoxitina, divergindo desta pesquisa que apresentou valores elevados de resistência para cefoxitina. Entretanto, Rapini *et al.* (2003) verificaram elevada frequência de sensibilidade das cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas de leite cru, queijo e manipuladores de alimentos (narinas, mãos e orofaringe) frente a 12 antibióticos.

Elevado percentual de resistência também foi encontrado para a ceftazidima (38%) que, assim como as penicilinas, são antibióticos β -Lactâmicos. Essas drogas induzem o *Staphylococcus* spp. a adquirir resistência, seja pela capacidade de produzir a enzima β -lactamase ou pela produção da proteína diferenciada de parede, codificada pela região gênica

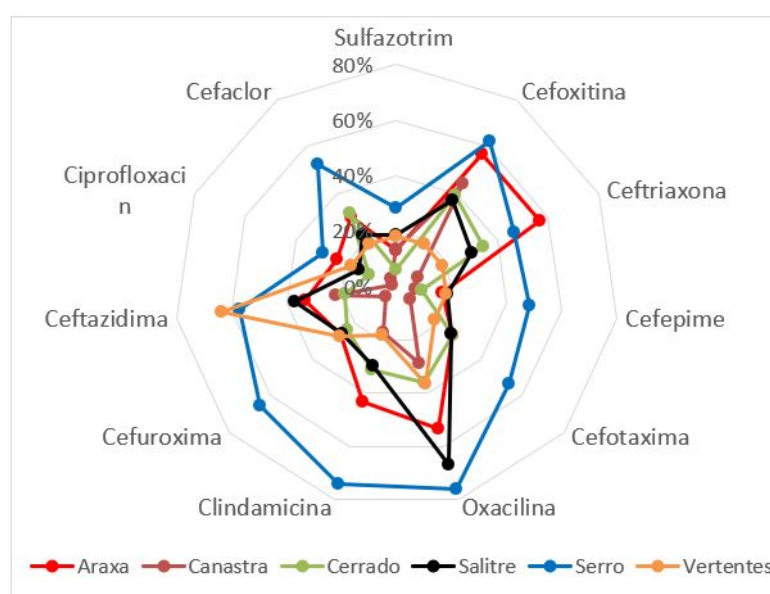
(mec), que caracteriza os micro-organismos considerados resistentes à meticilina. Valores elevados de resistência a ceftazidima também foram encontrados por Lapinha (2012), em queijos da Serra da Canastra, corroborando com os resultados obtidos na presente pesquisa.

Resultados divergentes a esta pesquisa foram encontrados por Resch *et al.* (2006), em que foi observado nível de resistência à oxacilina (35%) muito superior ao encontrado para a cefoxitina (3%). Já os resultados encontrados por Costa (2010) assemelham com os resultados desta pesquisa, onde é similar a porcentagem de resistência para os dois antibióticos.

Dos 294 isolados analisados, 46 (15,6%) se mostraram sensíveis a todos antibióticos testados. Em um estudo realizado por Pereira *et al.* (2009) no qual vários alimentos foram analisados, incluindo queijos, e leite cru com o objetivo de avaliar a suscetibilidade aos antibióticos para isolados de *S. aureus*, se observou que 15% dos isolados se mostraram sensíveis a todos os antibióticos testados, apresentando resistência a oxacilina em 38%.

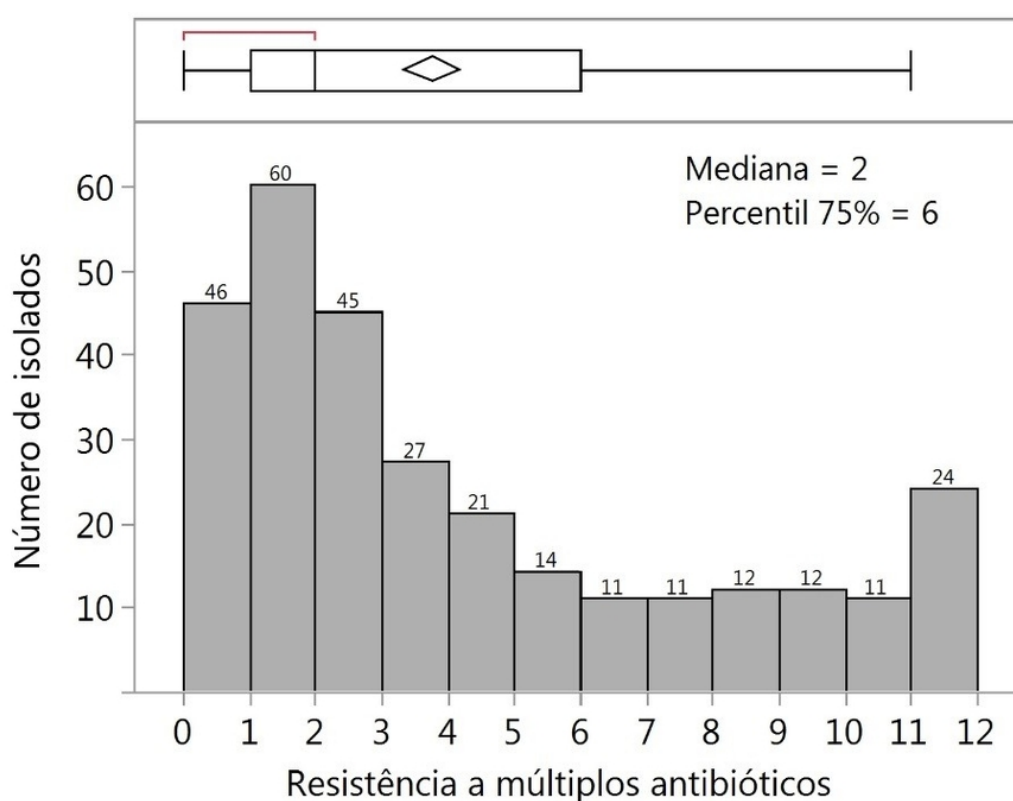
Entre as regiões produtoras de queijo Minas artesanal, os isolados da região do Serro apresentaram maior percentual de isolados resistentes aos antibióticos pesquisados (FIG. 3). Contudo, esse resultado pode ter sido influenciado pelo maior número de amostras (11 amostras) e de isolados avaliados, 103 (35%) do total de 294, enquanto que as outras regiões foram analisados uma menor quantidade, sendo 30 (10%) da região de Araxá, 59 (20%) da Canastra, 64 (22%) do Cerrado, 27 (9%) do Salitre e 11 (4%) da Vertentes.

Figura 3 – Distribuição da resistência a antibióticos de *Staphylococcus coagulase positiva* isolados de queijo Minas artesanal por região produtora



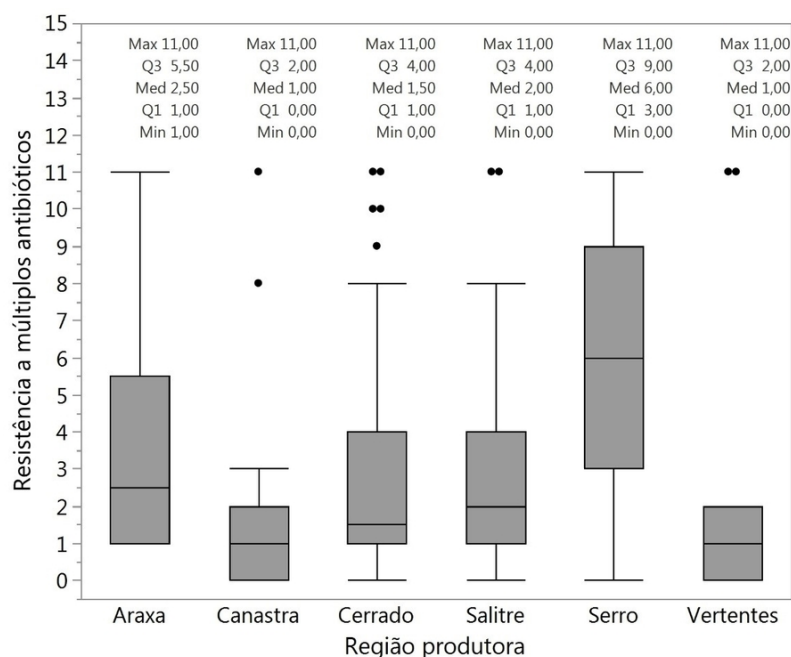
A resistência a pelo menos 2 antibióticos foi observada em 106 dos isolados, sendo que 73 foram resistentes a mais de seis antibióticos (FIG. 4). A definição de multirresistência adotada neste estudo está relacionada com a resistência a duas ou mais classes de antibióticos diferentes de acordo com a definição adotada por Rabatsky-Her *et al.* (2004), Gibbs *et al.* (2006) e Albuquerque *et al.* (2007).

Figura 4 – Distribuição da resistência a múltiplos antibióticos de isolados de *Staphylococcus coagulase* positiva isolados de queijo Minas artesanal.



Os isolados das regiões do Serro e Araxá foram os que apresentaram maior resistência aos antibióticos analisados, 50% dos isolados de amostras da região de Araxá foram resistentes a pelo menos três antibióticos e 25% dos isolados da região do Serro foram multiresistentes a pelo menos nove antibióticos (FIG. 5). A região que apresentou menor média de isolados multirresistentes foi a da canastra, em que somente dois isolados (3,4%) foram resistentes a mais de três antibióticos. Observou-se que em todas as regiões produtoras de queijo Minas artesanal foi identificado pelo menos um isolado resistente a todos os onze antibióticos.

Figura 5 – Distribuição de *Staphylococcus* coagulase positiva resistente a múltiplos antibióticos isolados de queijo Minas artesanal por região produtora.



Pereira *et al.* (2009) analisaram diversos alimentos, incluindo carnes cruas, produtos cárneos fermentados tradicionais portugueses, queijos, leite cru proveniente de vacas com mastite, leite cru proveniente de vacas saudáveis e outros produtos alimentícios, na pesquisa de suscetibilidade aos antimicrobianos para isolados de *Staphylococcus aureus*, pode observar 15% dos isolados se mostraram sensíveis a todos os antibióticos testados, sendo que a resistência a β -lactâmicos foi evidente em 73% apresentando elevado percentual.

Costa, 2010 ao analisar o perfil de susceptibilidade antimicrobiano em queijo minas frescal, obteve 95 isolados de *S.aureus* coagulase positiva, dentre eles, apenas 14 (14,7%) se mostraram sensíveis a todos os antimicrobianos e 81 (85,3%) dos isolados intermediariamente resistentes ou resistentes a pelo menos um antimicrobiano testado e dentre os isolados não multirresistentes, 39 (41,0%) eram intermediariamente resistentes ou resistentes a pelo menos um antimicrobiano. Estes resultados corroboram a hipótese de que a resistência a antibióticos está presente não somente em bactérias nosocomiais, mas também em micro-organismos na comunidade, principalmente em produtos como o queijo.

4 CONCLUSÃO

Os isolados de *Staphylococcus* spp. apresentaram, de modo geral, elevados percentuais de resistência a oxacilina, clindamicina e cefoxitina. A disseminação de *Staphylococcus* multiresistente à antibióticos também está ocorrendo na cadeia produtiva do queijo Minas artesanal.

Embora os resultados do presente estudo não retratem especificidades da cadeia produtiva e expressem dados apenas do produto, é importante enfatizar que medidas sejam adotadas para controle do uso indiscriminado de antibióticos no tratamento terapêutico tanto dos manipuladores quanto dos animais da cadeia do queijo minas artesanal, a fim de reduzir a disseminação de bactérias resistentes a antibióticos.

5 REFERÊNCIA

ANVISA. Módulo 3: **Resistência Microbiana - Mecanismos e Impacto Clínico**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm_controle/opas_web/b/modulo3/bibliografia.htm>. Acesso em: 13 abril 2017.

ARAUJO, T. F. **Caracterização e identificação de *Enterococcus* spp. isolados do fermento endógeno utilizado na fabricação do queijo minas artesanal da região da Canastra**, Minas Gerais. 2008. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas 6888-1/2016**, Rio de Janeiro: ABNT, p. 8, 1993.

ALIBAYOV B. *et al.* Análise molecular ilhas de patogenicidade de *Staphylococcus aureus* (SaPI) e sua combinação de superantígenos de amostras de alimentos. **Journal of Microbiological Methods**, p.107: 197-204, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - RDC nº 12**, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil**. 2018. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/17/Apresentacao-Surtos-DTA-2018.pdf>>. Acesso em 05 jun. de 2018.

BRASIL. Portaria n. 2349, de 14 de setembro de 2017. Classificação de risco dos agentes biológicos, Brasília,DF, mar. 2017.

CARFORA V., CAPRIOLI A., MARRI N., SAGRAFOLLI D., BOSELLI C. *et al.* Enterotoxin genes, enterotoxin production, and methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products in Central Italy. **International Dairy Journal**, v.42, p.12-15, 2015.

CHOE *et al.* Genome-scale analysis of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 reveals a tradeoff between pathogenesis and drug resistance. v. 8, n. 1, p. 2215, 2018.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100 (ISBN 1-56238-838-X [Print]; ISBN 1-56238-839-8 . Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2018.

COSTA, G. M. **Mamite bovina em rebanhos leiteiros da região sul do estado de Minas Gerais**. 2008.123f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

COSTA, J. C. B. **Avaliação do perfil de suscetibilidade a antimicrobiologia e presença dos genes *necA* e *quacA/B* em *staphylococcus* spp. isolados de queijo minas frescal**. 2010. 87 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária)- Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2010.

DEMEU *et al.* Effect of daily milk production on the economic impact of mastitis in cattle herds. v. 73, n. 1, p. 53 – 61, 2016.

EFSA (European Food Safety Authority). Joint scientific report of ECDC, EFSA and EMEA on 445 meticillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in livestock, companion animals and 446 foods, EFSA-Q-2009-00612. **EFSA Journal**, p. 1-10, 2009.

EMATER. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. **Produção de Queijo Minas Artesanal ganha reforço com o atendimento a 600 produtores familiares no Estado**. 24 fev. 2017. Disponível em: <http://www.emater.mg.gov.br/portal.cgi?fla_gweb=novosite_pagina_interna&id=20360>. Acesso em: 03 jun. 2018.

GIBBS S. G, C. F , P. M , MOTA L. C. Isolamento de bactérias resistentes a antibióticos da pluma de ar a favor do vento de uma operação de alimentação de animais confinada ou concentrada em suínos. **Environ Health Perspect**, p. 114: 1032-1037,2006.

ICMSF - Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos. **Microorganismos em Alimentos**. 2.ed. Toronto: Universidade de Toronto, p. 436,1983.

IMA- INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. **Queijo minas artesanal. Detalhes de Produtores de queijo minas artesanal**. on-line, 11 maio 2018. Disponível em: < http://www.ima.mg.gov.br/material-curso-cfo-cfoc/doc_details/680-produtoresqueijo-minas-artesanal>. Acesso em: 26 maio 2018.

LAPINHA D. **Staphylococcus spp. isolados de queijo artesanal da Serra da Canastra: identificação bioquímica e molecular, detecção de genes para produção de toxinas, susceptibilidade a antimicrobianos e atividade antagonista in vitro frente a Lactobacillus spp.** Dissertação (Mestrado Ciência animal). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

LOCATELLI , *et al.* Comunicação curta: *Staphylococcus aureus* resistente à *meticilina* em leite de tanque de volume de vacas leiteiras e efeito da densidade populacional suína. **Journal of Dairy Science**, p. 2151 - 2156, 2016.

MARTINS, J. M. **Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo minas artesanal do Serro**. 2006. p.158.Dissertação (Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Viçosa: UFV, 2006.

MACHADO, E. C. *et al.* Características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal do Serro, Minas Gerais. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 516-521, 2004.

MENESES, J. N. C. de. Queijo artesanal de Minas: patrimônio cultural do Brasil. Belo Horizonte: Ministério da cultura, 2006. p.139. (**Dossiê interpretativo, v1**)

MILKPOINT, 2017. MG: **Produção de queijo minas artesanal ganha reforço com o atendimento de produtores familiares**. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/industria/cadeia-do-leite/giro-de-noticias/mg-producao-de-queijo-minasartesanalganhareforco-com-o-atendimento-de-produtores-familiares-104224n.aspx>>. Acesso em: 04 jul. de 2018.

MIMICA, *et al.* *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina: um problema emergente. *Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo*, São Paulo, v. 51, n. 2, p.52-56, jan. 2012.

MÜLLER, F.M.P. **Susceptibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* recuperados de leite bovino in natura e envolvidos em surto de intoxicação alimentar.** 2003. 98f. Dissertação(Mestrado) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL K. S.; PFALLER M. A. **Microbiologia Médica.** Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

NSCFS (Norwegian Scientific Committee for Food Safety). (2015). **Assessment of antimicrobial 565 resistance in the food chains in Norway.** Scientific Opinion of the Panel on microbiological 566 hazards of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety. In. Oslo, Norway.

OLIVEIRA, AL; CARMO, LS *et al.* Ocorrência de estafilococos coagulase positivos, indicadores microbianos e características físico-químicas de queijo semiduro tradicional produzido no Brasil. **Journal of Dairy Technology** ,v.62, p. 372-377, 2009.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Relatório Global de Resistência a antimicrobianos.** Geneva: **World Health Organization, 2014.** Disponível em :< https://www.paho.org/bra.../index.php?option=com_content&view=article&id=5592:novos-dados-revelam-niveis-elevados-de-resistencia-aos-antibioticos-em-todo-o-mundo&Itemid=812> Acesso em: 03 fev. 2018.

PEREIRA, V.; LOPES, C.; CASTRO, A.; SILVA, J.; GIBBS, P. TEIXEIRA, P. Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. **Food Microbiology**, v. 26, p. 278-282, 2009.

PEREIRA, D. B. C., *et al.* **Físico-química do leite e derivados – Métodos analíticos.** 1. ed. Juiz de Fora-MG: Oficina de Impressão Gráfica e Editora Ltda. p.190, 2001.

PINTO, M. S. *et al.* Queijo Minas Artesanal da região do Serro: Avaliação de *Staphylococcus aureus* e suas enteroxinas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 59, n. 336, p. 82-86, 2004.

PINTO, M. S. **Diagnóstico socioeconômico, cultural e avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do Queijo Minas Artesanal do Serro**. 2004. 134 f Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

QUINN P. J. *et al.* Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. **Artmed**, Porto Alegre, p.115-130, 2005.

RABATSKY *et al.*, 2004 .Cepas multirresistentes de *Salmonella enterica* Typhimurium, Estados Unidos, 1997–1998. **Emerging Infectious Diseases**, p. 795 – 801, 2004.

RAPINI, L.S.; TEIXEIRA, J.P.; MARTINS, N.E. *et al.* Perfil antimicrobiano de cepas de *Staphylococcus sp.* isoladas de leite cru de cabra, queijo e manipuladores. **Revista Higiene Alimentar**, v.17, p.162, 2003.

RESCH M, *et al.* Comparação da resistência a antibióticos de patógenos de úbere em vacas leiteiras mantidas em fazendas orgânicas e convencionais. **Journal of Dairy Science**, 989-997, 2006.

ROSENGREN A. *et.al* Occurrence of foodborne pathogens and characterization of *Staphylococcus aureus* in cheese produced on farm-dairies. **International Journal of Food Microbiology**, p.144:263–26, 2010.

SABIONI, J. G.; HIROOKA, E. Y.; SOUZA, M. L. R. Intoxicação alimentar por queijo Minas contaminado com *Staphylococcus aureus*. **Revista de Saúde Pública**, v. 22, 458-61, 1988.

SCHLEIFER, K. e VELL, J. A.. Family VIII staphylococcace fam. Nov. In: DeVos, P., G. M., Jones, D., *et al.* **Bergeys Manual of systematic bacteriology**, 2ed. New York, Springer. p.392, 2009.

VERAS, J.F.; SANTOS, D.A.; CARMO, L.S. *et al.* Levantamento de surtos de toxinfecção alimentar envolvendo leite e produtos derivados no estado de Minas Gerais, Brasil. In: I Congresso latino-americano de higienistas de alimentos; VII Congresso brasileiro de higienistas de alimentos, 2003, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Associações de classe, 2003.

VIANA, FR; OLIVEIRA, AL; CARMO, LS *et al.* Ocorrência de estafilococos coagulase positivos, indicadores microbianos e características físico-químicas de queijo semiduro tradicional produzido no Brasil. **International Journal of Dairy Technology** , V.62, p. 372-377, 2009.

CAPÍTULO 3 - Aceitação sensorial e caracterização por espectroscopia no infravermelho (FTIR-ATR) do queijo minas artesanal do Serro

RESUMO

A pesquisa foi conduzida com o intuito de avaliar, sensorialmente, a aceitação do queijo artesanal do Serro em relação a queijos industrializados mais consumidos e caracterizar por espectroscopia no infravermelho (FTIR-ATR) as diferenças e similaridades na composição química que podem influenciar a aceitação. Foi realizado o teste sensorial de aceitação em 2 sessões utilizando escala hedônica com referência, com provadores não treinados, porém consumidores de queijo habituais de queijos. Foram utilizados os queijos industrializados muçarela, minas padrão e meia cura produzidos pela cooperativa de produtores de queijo do Serro e adquiridos no comércio local da cidade de Diamantina, Minas Gerais, e queijos artesanais da região do Serro adquiridos diretamente de produtores cadastrados e maturados em diferentes condições, um a temperatura ambiente sem embalagem e outro embalado a vácuo e mantido em temperatura controlada de 8°C. Para análise de espectroscopia utilizou-se as mesmas amostras da análise sensorial, as quais foram cortadas no centro geométrico, extraído uma fração no formato cúbico e transferidas para o equipamento de análise. Observou-se que a aceitação do queijo artesanal não está associada ao gênero ou a faixa etária quando o queijo de referência foi o artesanal a 8°C. A aceitação pelo queijo maturado a temperatura ambiente foi associada ao gênero masculino, escolaridade de nível superior e terceirizados e a pessoas com faixa etária entre 26 e 35 anos. A rejeição foi associada a estudantes e pessoas do gênero feminino. A aceitação foi maior para os queijos industrializados em relação aos queijos artesanais de referência, nas duas sessões realizadas. Diferentemente do observado na primeira sessão sensorial, na segunda a aceitação do queijo minas padrão, em relação ao artesanal maturado a temperatura ambiente, foi estatisticamente ($P < 0,05$) maior que a aceitação do queijo meia cura e que a aceitação do artesanal a 8°C. No comparativo entre os artesanais, o queijo artesanal a 8°C obteve maior aceitação que o queijo artesanal maturado a temperatura ambiente. Pode-se notar diferença no padrão dos espectros relacionados ao queijo artesanal comparado aos industrializados. O queijo maturado a temperatura ambiente apresentou bandas de absorção maiores em relação a carboidratos e gorduras e menores absorbâncias no grupamento amida, ao contrário dos queijos artesanais a 8°C. Diferenças também foram observadas nos resultados das análises físico-químicas, no teor de cloreto de sódio, umidade, pH, acidez e cinzas, fato este que se justifica pela não padronização do queijo artesanal

Palavras-Chaves: Aceitação do Consumidor. Análise Sensorial. Espectroscopia. Queijo Artesanal. Queijo Industrializado.

ABSTRACT

The research was conducted aiming to assess sensorially the acceptance of Serro's artisanal cheese when compared to the most consumed industrialized cheeses and characterize, using infrared spectroscopy (FTIR-ATR), the differences and similarities in the chemical composition that can influence acceptance. The sensorial test was performed in 2 sessions using the hedonic scale with reference with untrained tasters, but who frequently consumed cheeses. The industrialized cheeses used were the mozzarella, standard Minas and half-cured produced by the cooperative of cheese producers from Serro which were acquired on the local commerce of the city of Diamantina, Minas Gerais, and artisanal cheeses from the region of Serro which were acquired directly from registered producers and which were matured under different conditions: one at ambient temperature without packing while the other was vacuum packed and kept under a controlled temperature of 8°C. For the FTIR-ATR analysis the same samples of the sensorial analysis were used, which were cut at the geometric center and then a cubic fraction was extracted and transferred to the analysis equipment. It was observed that the artisanal cheese's acceptance isn't associated to either gender or age group when the reference cheese was the artisanal one at 8°C. The acceptance of matured cheese at ambient temperature was associated to the male gender, graduated and outsourced and aged between 26 to 35, while the rejection was associated to students and people from the female gender. The acceptance was higher for industrialized cheeses when compared to artisanal cheeses on both sessions. Unlike what was observed on the first sensorial session, on the second one the acceptance of the standard Minas cheese, when compared to the artisanal cheese matured at ambient temperature, was statistically ($p < 0,05$) higher than the acceptance of both the half cure cheese and the artisanal cheese at 8°C. When comparing artisanal cheeses, the one matured at 8°C had higher acceptance than the one matured at ambient temperature. One can notice differences in spectra pattern related to artisanal cheese when compared to the industrialized ones. The cheese matured at ambient temperature presented higher absorption bands associated to carbohydrates and fat and lower absorbances on the starch group, unlike artisanal cheeses at 8°C. Differences were also observed on the physical-chemical analysis' results on the sodium chloride content, moisture, pH, acidity and ashes, which is justified by the lack of padronization in artisanal cheese.

Keywords: Consumer Acceptance. Sensory analysis. Spectroscopy. Artisanal Cheese. Processed Cheese

1 INTRODUÇÃO

O Estado de Minas Gerais é conhecido tradicionalmente pela produção do queijo artesanal (QMA), representando uma atividade significativa para a economia do Estado. Atualmente, o QMA é produzido em sete regiões distintas do Estado (Serro, Canastra, Cerrado, Araxá, Campo das Vertentes, Serra do Salitre e Triângulo Mineiro), abrangendo 75 municípios (MINAS GERAIS, 2018).

O queijo Minas artesanal da região do Serro, se destaca entre os demais, pois a sua fabricação e consumo estão incorporados a cultura regional, uma tradição secular, constituindo assim o primeiro patrimônio cultural imaterial de Minas Gerais, pelo Instituto de Patrimônio Histórico e Artístico Nacional - IPHAN (MENESES, 2006).

O QMA do Serro é produzido com leite de vaca cru, recém-ordenhado com adição de “pingo” ou “rala” (cultura endógena) e coalho líquido industrial. O “pingo” é oriundo da dessoragem do queijo (PERIN *et al.* 2017). Já a “rala” é o queijo com no mínimo 2 dias de maturação, que é ralado e adicionado ao leite (BRUMADO, 2016).

Os queijos artesanais apresentam características diversas, e várias diferenças quando comparados com aqueles produzidos a partir do leite pasteurizado, principalmente o sabor e a microbiota do queijo artesanal que os tornam únicos e complexos (ARAÚJO, 2004). O modo peculiar de fazer o queijo artesanal dificulta sua padronização, particularmente em relação ao tempo de coagulação, teor de sal e do fermento endógeno natural (BORELLI *et al.*, 2006; CARDOSO *et al.*, 2013, PINTO *et al.*, 2009). A maturação é outro ponto de peculiaridade na diferenciação entre os tipos de queijo, tanto nos industrializados quanto nos artesanais.

A elaboração dos queijos industrializados se difere do queijo artesanal desde a seleção e tratamento do leite, que é pasteurizado com o objetivo de eliminar a microbiota patogênica sem que ocorra alteração significativa na constituição físico-química e nas características sensoriais. Dessa forma, se obtêm um produto padronizado e uniforme quanto ao sabor, além da redução da incidência de defeitos (SILVEIRA, *et al.*, 2003).

Pesquisas realizadas comparando a aceitação de vários tipos de queijos artesanais e industrializados detectaram diferenças significativas no perfil sensorial e das características físico-químicas. Tais diferenças são principalmente causadas por fermentos lácteos endógenos e conteúdo microbiano presente no leite utilizado na produção do queijo. Além disso, o sabor do queijo pode ser afetado pela desnaturação das proteínas durante o processo de pasteurização (FERNANDEZ-GARCIA *et al.*, 2002; HICKEY *et al.*, 2007; MURPHY *et al.*, 2000; REHMAN *et al.*, 2000; VAN LEUVEN *et al.*, 2008).

O consumo de queijo no Brasil é crescente (CARVALHO, 2015), inclusive por

queijos artesanais. Apesar da diversificação de consumo de queijo no mercado interno, a muçarela, o requeijão, o Minas e o prato representam mais de 60% das vendas de queijos no Brasil e são as variedades mais populares entre os consumidores (ITAL, 2017; RABELO, 2015).

Nesse ponto, entender os fatores de diferenciação e os contribuintes para a aceitação dos consumidores por determinados tipos de queijos é essencial para direcionamento de segmentos de mercado para os queijos Minas artesanais. Assim, um dos objetivos do presente trabalho foi avaliar sensorialmente a aceitação do queijo artesanal do Serro em relação a queijos industrializados consumidos. Os estudos sensoriais sobre o queijo artesanal do Serro são escassos, particularmente os comparativos com queijos industrializados.

A potencialidade da espectroscopia na caracterização e monitoração de queijos é objeto de diversos estudos, como a predição da qualidade sensorial e a avaliação dos componentes físico-químicos (ABRAHANSEN, 2014; BLAZQUEZ *et al.*, 2006; CURRÒ *et al.*, 2017; GORI *et al.*, 2010; KAROUI *et al.*, 2004; KOCAOGLU-VURMA *et al.*, 2009; LERMA-GARCIA *et al.*, 2010; MARTIN-DEL-CAMPO *et al.*, 2007; SOTO-BARAJAS *et al.*, 2013; SUBRAMANIAN *et al.*, 2011).

Assim, um outro objetivo do estudo é caracterizar, por espectroscopia no infravermelho, os queijos estudados, sensorialmente, de modo a identificar diferenças e similares nos espectros que podem estar influenciando a aceitação. A técnica de espectroscopia no infravermelho representa um importante avanço na busca de uma metodologia analítica rápida e de baixo custo, é uma ferramenta confiável para se avaliar aspectos de qualidade dos alimentos e obter informações rápidas sobre a composição química e maturação de queijos, contrastando com os métodos tradicionais de análise, que são trabalhosos e despendem, relativamente, muito tempo (CHEN *et al.*, 2009; MARINHO *et al.*, 2015).

2 METODOLOGIA

2.1 Aquisição e descrição das amostras de queijos

Foram utilizados os queijos industrializados muçarela, minas padrão e meia cura produzidos pela cooperativa de produtores queijo do Serro (CooperSerro) e adquiridos no comércio local da cidade de Diamantina, Minas Gerais, a escolha destes queijos se deu por conter a matéria prima da mesma região do queijo artesanal. Os queijos artesanais utilizados foram adquiridos diretamente de dois produtores da cidade do Serro, produzidos com fermento endógeno pingo, mas maturados em diferentes condições. Um dos queijos artesanais foi embalado a vácuo e maturado sob temperatura controlada de 8°C, enquanto o outro foi adquirido de produtor cuja maturação ocorre em temperatura ambiente sem embalagem. Os queijos artesanais apresentaram, quando analisados, por volta de 60 dias de maturação.

O queijo muçarela é um queijo de massa semi-dura e filada, com sabor fresco e agradavelmente ácido. O queijo minas padrão é fabricado a partir do leite de vaca pasteurizado, maturado em torno de 25 dias, a massa recebe lavagem com tratamento térmico, o que reduz a acidez, tornando-o levemente ácido e massa firme. Já o queijo meia cura, é fabricado a partir do leite pasteurizado e passa por prensagem, lavagem da massa com tratamento térmico e maturação por cerca de 10 dias, como resultado apresenta-se com sabor pronunciado e baixo teor de gordura.

Os queijos industrializados foram adquiridos na véspera ou nos próprios dias das avaliações sensoriais, enquanto que os queijos artesanais foram adquiridos na semana de análise, no caso do maturado a temperatura ambiente. Já o maturado a temperatura de 8°C foi adquirido dois meses antes e mantido na mesma temperatura (8°C).

2.2 Teste de Consumidor

A pesquisa foi submetida ao comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri e aprovada sob o parecer nº 2.296.343. Os testes sensoriais foram realizados em cabines individuais, a temperatura ambiente, no laboratório de Análise Sensorial, do Departamento de Nutrição, da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, onde os provadores assinaram e receberam uma cópia do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Os critérios de inclusão dos provadores na pesquisa foi ter idade superior a 18 anos e ser consumidor habitual de queijo, consumir pelo menos uma vez por semana.

As amostras foram apresentadas na temperatura ambiente, cortadas no formato de cubos de aproximadamente 2 cm de lado, dispostas em pratos plásticos descartáveis de 15 cm de diâmetro, devidamente codificadas com números aleatórios de três dígitos, e a amostra de referência (R). Juntamente com as amostras foi ofertado biscoito tipo “água e sal” e água para limpeza do palato entre as avaliações das amostras. Foi solicitado aos provadores que avaliassem as amostras da esquerda para a direita.

Os provadores avaliaram as amostras utilizando uma escala hedônica com referência, proposta por Bergara-Almeida e Silva (2002), apresentada na Figura 6. Ao utilizar a escala, o provador foi primeiramente convidado a experimentar a amostra de referência e depois a amostra codificada, avaliando quanto mais ou menos gostou da amostra codificada em relação à referência.

As amostras de queijo Minas artesanal foram utilizadas como a referência nas duas sessões de avaliação. Em cada sessão, foram apresentadas quatro amostras de queijo, sendo uma referência e mais três amostras codificadas. Na primeira sessão foram avaliados os queijos muçarela, minas padrão e meia cura, tendo como referência o queijo artesanal embalado a vácuo e mantido a 8 °C. Na segunda sessão o queijo o maturado a temperatura sem embalagem foi

utilizado como referência e foram avaliados os queijos minas padrão, meia cura e o artesanal maturado a 8 °C.

Figura 6 – Ficha de avaliação da aceitação sensorial de queijo Minas artesanal em relação a queijos industrializados utilizando uma escala hedônica com referência

Amostra: _____ Nome: _____ Data: _____

Idade: _____ Sexo: () M () F Profissão: _____

Avalie inicialmente a amostra com a letra R e depois as amostras codificadas, na ordem da esquerda para a direita, e expresse quanto você gostou das amostras codificadas, utilizando a escala a seguir:

-4 – Gostei muitíssimo menos que a R.
 -3 – Gostei muito menos que a R.
 -2 – Gostei moderadamente menos que a R.
 -1 – Gostei ligeiramente menos que a R.
 0 – Gostei da amostra igual a R.
 +1 – Gostei ligeiramente mais que a R.
 +2 – Gostei regularmente mais que a R.
 +3 – Gostei muito mais que a R.
 +4 – Gostei muitíssimo mais que a R.

Amostra	Nota
251	
694	
475	

Dê a razão de sua preferência ou rejeição:

O grupo de provadores em ambas sessões foi predominante para a gênero feminino, com idade entre 18 e 25 anos, e estudantes.

2.3 Análises físico-químicas das amostras de queijo

Porções de 5g de cada amostra de queijo utilizado nas duas sessões de avaliação sensorial foram retiradas em triplicata para a realização das análises físico-químicas, que foram realizadas no laboratório de higiene de alimentos do departamento de nutrição, conforme metodologias descritas por Pereira *et al.* (2001).

A determinação do pH das amostras foi mensurada utilizando o peagâmetro digital de bancada (BEL Engineering®, Itália, modelo pH 38w), acoplado com eletrodo de imersão previamente calibrado. A acidez foi determinada por titulação utilizando solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L na presença de fenolftaleína e, os resultados foram expressos em teor de ácido láctico.

A umidade foi determinada pelo método de gravimetria em estufa regulada a 50°C efetuando pesagens até peso constante. O percentual de cloreto de sódio foi determinado pelo doseamento nas cinzas, seguido pela titulação da reação do nitrato de prata com cloreto em presença de cromato de potássio, até viragem característica.

2.4 Caracterização das amostras de queijos por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e refletância total atenuada (FTIR-ATR)

As amostras de queijo artesanal e industrializadas utilizadas na análise sensorial foram separadas e analisadas em triplicata, no laboratório multiusuário da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Para análise foi utilizado um espectrofotômetro Varian modelo 640 IR, realizada em atmosfera seca à temperatura ambiente ($\sim 20^\circ\text{C}$). As medições da refletância total atenuada (ATR) foram realizadas por meio do acessório de amostragem ATR (Pike Technologies, modelo Gladi ATR). Os espectros foram obtidos no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} com 4 cm^{-1} de resolução e 32 varreduras acumuladas. O tratamento dos dados foi realizado com o software Varian Resolutions Pro, para subtração de fundo e correção da linha de base.

Para a aquisição dos espectros, as amostras de queijo foram cortadas no centro geométrico do queijo e com o auxílio de uma espátula foi extraído pedaço no formato cúbico, de aproximadamente 1 cm, e estas foram transferidas diretamente para a superfície do cristal do ATR. Inicialmente se obteve os espectros de referência (background), com o objetivo de eliminar qualquer sinal de CO_2 na aquisição do espectro. Após a realização do background, frações das amostras foram dispostas sobre o cristal e submetidas à leitura e entre as análises dos espectros o equipamento foi higienizado com álcool isopropílico.

2.5 Análise Estatística

Os dados foram analisados por meio de métodos de estatística univariada e multivariada utilizando os softwares SAS® University Edition (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) e Microsoft® Excel 2013 (Microsoft Corporation). Os experimentos de aceitação sensorial foram delineados em blocos casualizados, tendo como fonte de variação o tipo de queijo (efeito fixo) e os provadores (efeito aleatório), e analisados por meio de Análise de Variância. A variância foi estimada pelo método de Máxima Verossimilhança Restrita (REML), e os graus de liberdade dos efeitos fixos pela aproximação de Kenward-Roger. A normalidade e independência dos resíduos, homogeneidade de variância foram avaliadas por meio dos testes de Shapiro-Wilk, Durbin-Watson e Levene, respectivamente.

Os dados dos perfis espectrais obtidos foram depurados selecionando os valores de transmitância no intervalo 3500-800 cm^{-1} por apresentarem inconsistência entre os perfis de algumas amostras. Após a depuração, foram identificadas as bandas de absorbância correspondentes aos principais constituintes do queijo.

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1 Análise Sensorial

A aceitação sensorial de queijo artesanal em relação aos industrializados foi realizada em duas sessões de avaliação sensorial, tendo na primeira sessão o queijo artesanal embalado a vácuo e maturado em temperatura de 8°C (artesanal a 8°C) como amostra referência e o queijo artesanal maturado na temperatura ambiente sem embalagem como referência na segunda sessão de avaliação. Os provadores, constituíram consumidores habituais de queijo, predominantemente estudantes do gênero feminino, a maioria com idade entre 18 e 25 anos (TAB. 2). Nota-se que a proporção de provadores por gênero, idade e ocupação foi similar nas duas sessões de avaliação sensorial.

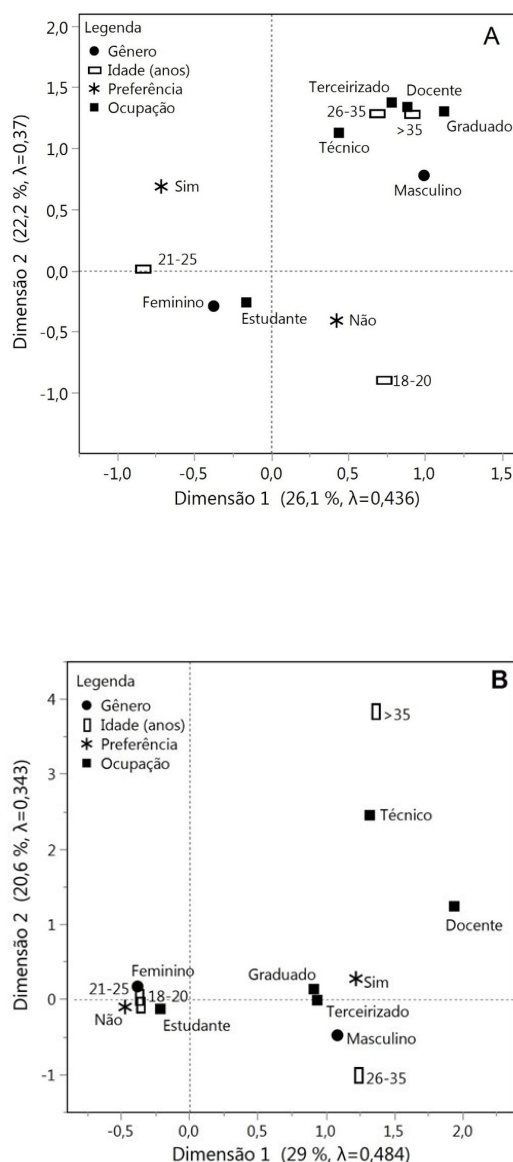
Tabela 2 – Informações demográficas referente aos provadores da análise sensorial de queijos artesanais e industrializados

Gênero	1ª sessão de avaliação sensorial (n = 99)	2ª sessão de avaliação sensorial (n=139)	Valor p (qui-quadrado)
Feminino	72 (72,7%)	103 (74,1%)	0,803
Masculino	27 (27,3%)	36 (25,9%)	
Idade			
18-20	31 (31,3%)	58 (41,7%)	0,112
21-25	47 (47,5%)	50 (36,0%)	
26-35	12 (12,1%)	24 (17,3%)	
>35	9 (9,1%)	7 (5%)	
Ocupação			
Docente	2 (2%)	4 (2,9%)	0,776
Estudante	82 (83%)	118 (85%)	
Graduado	5 (5%)	6 (4,3%)	
Técnico	6 (6%)	4 (2,9%)	
Terceirizado	4 (4%)	7 (5%)	

A preferência por queijo artesanal, definida com escore menor ou igual a zero, não está associada a um gênero ou a faixa etária quando o queijo de referência foi o artesanal a 8°C. Já a rejeição ao artesanal a 8°C mostrou-se está fracamente associada a pessoas mais jovens (18

a 20 anos). Contudo, a preferência pelo queijo maturado a temperatura ambiente foi associada ao gênero masculino, a graduados e terceirizados e com a faixa etária de 26 a 35 anos. A rejeição ao queijo artesanal maturado a temperatura ambiente foi associada a pessoas entre 18 a 25 anos, a estudantes e pessoas do gênero feminino (FIG. 7).

Figura 7 – Mapa de correspondência múltipla da preferência por queijo artesanal maturado a 8°C (A) e a temperatura ambiente (B) para gênero, faixa etária e ocupação



A aceitação foi maior para os queijos industrializados em relação aos queijos artesanais de referência, nas duas sessões realizadas (TAB. 3). Na primeira sessão de avaliação, os queijos meia cura, minas padrão e muçarela foram aceitos, obtiveram maiores escore médios de aceitação, em relação ao queijo artesanal embalado a vácuo e maturado a 8°C, contudo, os escores não foram estatisticamente diferentes entre esses queijos industrializados, com aceitação ligeiramente maior que o artesanal a 8°C.

Diferentemente do observado na primeira sessão sensorial, na segunda a aceitação do queijo minas padrão, em relação ao artesanal maturado a temperatura ambiente, foi estatisticamente maior que a aceitação do meia cura e que a aceitação do artesanal a 8°C. No comparativo entre os artesanais, o queijo artesanal a 8°C obteve maior aceitação que o queijo artesanal maturado a temperatura ambiente (TAB. 3).

De acordo com os comentários dos provadores, gosto amargo foi percebido no queijo artesanal maturado a temperatura ambiente por aproximadamente 60 dias, acompanhado do sabor forte e intenso, evidenciando a proteólise que é o principal evento bioquímico que acontece durante a maturação dos queijos.

Tabela 3 – Estimativas dos efeitos fixos da análise de variância para aceitação de queijos industrializados em relação a queijo artesanal da região do Serro, maturado a 8°C (1ª sessão) e a temperatura ambiente (2ª sessão)

Tipo de Queijo	Estimativa aceitação em relação ao artesanal	Erro	DF	Valor p	Intervalo de confiança (95%)
1ª sessão sensorial					
Meia Cura	1,29 ^a	0,248	236	< 0,01	(0,80; 1,78)
Muçarela	1,14 ^a	0,248	236	< 0,01	(0,65; 1,63)
Minas Padrão	0,77 ^a	0,248	236	< 0,01	(0,28; 1,26)
2ª sessão sensorial					
Minas Padrão	2,01 ^a	0,179	333	< 0,01	(1,66; 2,36)
Meia Cura	1,43 ^b	0,179	333	< 0,01	(1,08; 1,78)
Artesanal (8°C)	0,93 ^c	0,179	333	< 0,01	(0,58; 1,29)

^amédias seguidas pela mesma letra são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey-Kramer ($p > 0,05$).

O QMA maturado a 8°C utilizado como referência, na 1ª sessão, apresentou maior acidez e maior teor de cloreto em relação aos queijos industrializados com melhor aceitação (TAB. 4). O QMA a 8°C apresentou umidade com valores similares aos industrializados, e aparência de queijo mais fresco, sem casca amarelada, o que pode transmitir sensações de um queijo para lanches, como os industrializados avaliados. Entre os industrializados, o queijo de menor aceitação (minas padrão) foi o que apresentou maior teor de cloreto e maior acidez.

Em relação a umidade, observou-se uma variação de 33,8 a 43,2%, sendo que a menor umidade foi observada no QMA maturado em temperatura ambiente (com 60 dias de maturação) e a maior para o queijo industrializado meia cura produzidos com leite pasteurizado (TAB. 4).

Na 2ª sessão sensorial, que teve como amostra referência o QMA maturado a temperatura ambiente, os queijos industrializados foram os de melhor aceitação e apresentaram valores de acidez menores que os artesanais. O minas padrão, o de melhor aceitação, apresentou valores de cloreto intermediário em relação aos artesanais. Diferentemente do QMA maturado a 8°C, o maturado a temperatura ambiente apresentou umidade com valores inferiores a dos outros queijos, com aparência de casca amarelada, com visível crescimento de fungos. Essas características tornam o QMA maturado a temperatura ambiente distinto dos demais e, para os provadores, com menor aceitação entre os avaliados industrializados e o artesanal a 8°C.

Tabela 4 – Características físico-químicas das amostras dos queijos utilizadas na avaliação sensorial.

Tipo de Queijo	Umidade (%)*	acidez	pH	Cloreto (%)	Cinzas
1ª sessão sensorial					
Artesanal (8°C)	40	0,80	5,04	1,70	4,71
Minas Padrão	38,5	0,61	5,45	1,57	4,43
Meia Cura	41,6	0,49	5,39	1,10	3,79
Muçarela	41,7	0,14	5,64	0,65	3,65
2ª sessão sensorial					
Artesanal (ambiente)	33,8	0,72	5,24	0,87	3,69
Minas Padrão	41,7	0,52	5,35	1,15	5,42
Meia Cura	43,2	0,42	5,47	0,72	4,27
Artesanal (8°C)	43,1	0,75	5,09	1,69	4,66

* Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Quanto à acidez total (expressa em g de ácido láctico/100g), os menores valores foram encontrados nos queijos industrializados, sendo 0,14% para o queijo muçarela e o maior valor de 0,83%, para o queijo artesanal do Serro. A pasteurização reduz o ácido láctico, já o QMA é elaborado com a adição do “pingo” e por conter diversas bactérias em diferentes concentrações, cada queijo apresenta um teor de acidez. Em estudos com queijo artesanal e industrializados do serro, a Embrapa (2016) encontrou dados similares onde a maior acidez se deu para os queijos artesanais.

Com relação ao teor de cinzas, observou-se uma variação de 3,65 a 5,42 g/100 g, sendo que a amostra com a menor porcentagem de cinzas foi a muçarela e a com maior teor foi a do queijo minas padrão.

Quanto ao pH, o menor foi de 5,04 para o queijo artesanal refrigerado e os maiores foram do queijo processado muçarela. Os queijos industrializados apresentaram pH elevado e

menores porcentagem de acidez titulável. Dados estes que também foram encontrados como resultado na pesquisa da Embrapa (2016).

Ao relacionar os dados físico-químicos com os da análise sensorial observa-se que na segunda sessão sensorial o queijo minas padrão obteve maior média em relação a primeira sessão sensorial, avaliando a sua composição, pode-se perceber que esta variou apresentando maior teor de umidade, menor teor de acidez, pH e cloreto, o que pode ter acarretado um produto com melhor sabor, assim justificando a sua aceitação e maior média consequentemente.

O queijo meia cura apresentou segunda maior média de aceitação, analisando os dados físico-químicos pode-se observar que este apresenta maior umidade e pH e menor acidez, e baixos teores de cinzas e cloreto comparando a primeira com a segunda sensorial.

O QMA refrigerado obteve menor média de aceitação em comparação aos industrializados utilizados na primeira sessão. De modo geral os queijos industrializados foram preferidos em relação ao artesanal, provavelmente devido a falta de padronização e ao fato de que os artesanais apresentaram elevados teores de acidez, fazendo com que o queijo apresente um sabor diferenciado em relação aos demais, não agradando o paladar dos provadores.

Estudos de aceitação avaliando queijo artesanal do serro e queijos industrializados, são escassos, dentre estudos próximos a este, avaliando o QMA, Machado *et al* (2004), utilizou o queijo do Serro para análise sensorial, e este recebeu na escala hedônica média de 6,03, sendo considerado como gostei ligeiramente, apresentando baixa aceitação, os dados da presente pesquisa vão de acordo com os achados de Machado *et al.* onde o queijo artesanal não foi tão aceito quanto o industrializado.

Em seu trabalho Silva (2007) avaliou a preferência do consumidor entre queijos artesanais com e sem a cultura endógena o “pingo” e observou que os queijo que não continham o pingo foram preferidos devido a intensidade mais fraca do sabor.

Rehman *et al.* (2000), analisaram entre outros atributos, a preferência do consumidor entre o leite cru, processado, e leite cru adicionado porcentagens diferentes de leite pasteurizado, e pode-se observar que as médias mais altas foram encontradas para os queijos de leite pasteurizado e para o leite pasteurizado adicionado 1% de leite cru, já os queijos de leite cru e de leite pasteurizado, adicionado 5% de leite cru apresentou menores médias, considerando o sabor azedo, ácido e forte.

Van Leuven *et al.* (2008) realizaram análise sensorial descritiva para avaliar o queijo Gouda de leite cru e de leite pasteurizado, e observou diferenças na composição dos compostos de sabor voláteis, no qual associou as diferenças com a origem do leite e o pré tratamento sofrido. O que também pode ter ocorrido neste trabalho, levando em consideração que para cada queijo o leite passa por um processamento.

Os comentários dos provadores em relação aos queijos artesanais se restringiram ao sabor, salgado, azedo, ardor muito forte, gosto rancificado, ácido, desagradável, muito forte, amargo, textura seca e quebradiça e gosto ruim. Já os queijos industrializados receberam comentários positivos, como sabor agradável, suave, leve e saboroso, fato este que o levou a ser mais aceito em relação ao artesanal.

3.2 Caracterização das amostras de diferentes tipos de queijos por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e refletância total atenuada (FTIR-ATR)

Os diferentes queijos analisados sensorialmente foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho, os queijos foram estudados de modo a identificar diferenças e similares na composição química que podem estar influenciando a aceitação. Os espectros foram obtidos no intervalo da faixa de comprimento de onda de 4000 e 400 cm^{-1} como se observa nas Figuras 8 e 9, onde observa-se os espectros obtidos. Cada região espectral correspondente a um pico, e mostra informações sobre a composição química dos diferentes tipos de queijos analisados.

As áreas correspondentes as principais bandas de absorção de interesse na composição dos queijos se situaram na região de 3000 a 1000 cm^{-1} . Foram analisados os principais picos localizados nas regiões de 3000 a 2800 cm^{-1} e 1800 a 1000 cm^{-1} . O espectro de infravermelho apresenta um grande conjunto de informações de sobretons e combinação de modos vibracionais, porém nem todos os comprimentos de onda no espectro apresentam informações relevantes. A região espectral de 2700 a 1800 cm^{-1} foi eliminada por não apresentar picos relevantes, o mesmo foi reportado por Martín-del-Campo *et al.* (2007), Lerma-García *et al.* (2010) e Azarias (2017).

Segundo Carvalho *et al.*, (2015) a região nos comprimentos de onda 4000 a 1700 cm^{-1} , não é muito explorada devido ao fato de que nesta região estão presentes principalmente compostos tais como a água e o gás carbônico.

As bandas de absorção ligadas à resposta de proteínas estão situadas entre 1700 cm^{-1} e 1500 cm^{-1} e correspondem a Amida I (1640 cm^{-1}) e Amida II (1550 cm^{-1}). Comprimentos de onda na faixa de 3000 a 2800 cm^{-1} e 1765 a 1730 cm^{-1} correspondem aos picos relacionados a gorduras. Já a zona de absorção dos carboidratos e ácidos orgânicos é observada na região 1490 cm^{-1} a 950 cm^{-1} (RODRIGUEZ-SAONA *et al.*, 2006; MARTIN-del-CAMPO *et al.*, 2007; CARVALHO *et al.*, 2015; AZARIAS, 2017).

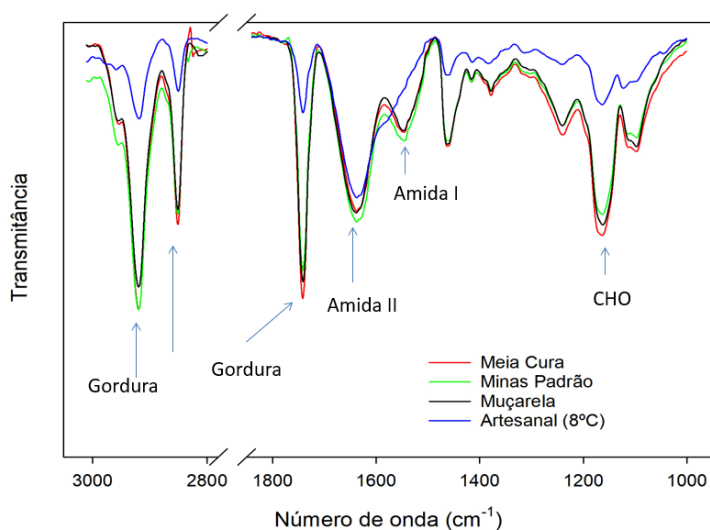
A zona de absorção dos carboidratos e ácidos orgânicos são observados na região 1490 cm^{-1} a 950 cm^{-1} , os picos localizados por volta de 1377 cm^{-1} são relacionados à glicose e galactose. A banda 1096 cm^{-1} (álcool secundário), 1082 cm^{-1} e 1045 cm^{-1} (álcool primário)

tem sido associados à lactose (MATIN-DEL-CAMPO *et al.*, 2007).

Na figura 8, observa-se comportamento semelhante nos espectros obtidos dos queijos meia cura, muçarela e minas padrão, provavelmente ao processamento similar desses queijos quando comparado ao artesanal. No entanto, houve diferença no padrão dos espectros relacionados ao queijo artesanal comparado aos industrializados. Foi constatado menor absorvância (FIG 8 e 9), principalmente nos picos relacionados a gorduras e carboidratos. A lipólise é uma importante fase de transformações na estrutura dos queijos, que corresponde a hidrólise das gorduras por meio de lipases com formação de ácidos graxos com baixo peso molecular. Essas reações acontecem pela ação de micro-organismos presentes ou através de enzimas que são adicionadas com essa finalidade, formando então os ácidos butírico, caprótico, caprílico, cáprico e láurico (PERRY, 2004).

Essa diferença de padrão dos espectros entre os queijos artesanais e industrializados pode ser correlacionado com a preferência do consumidor que preferiram os queijos industrializados em comparação ao artesanal, o queijo artesanal refrigerado apresentou menor absorvância nos picos de gordura e carboidrato fator que pode ter influenciado no sabor, e consequentemente, na preferência do provador.

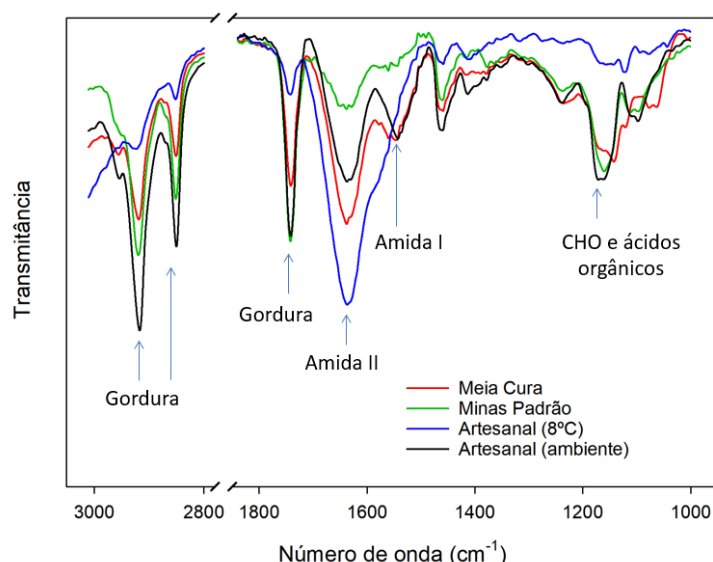
Figura 8 – Espectros das amostras do queijo Minas artesanal e Industrializados do Serro referente a primeira sessão da análise sensorial



Em relação à figura 9 pode-se notar que os queijos industrializados meia cura e minas padrão apresentaram absorvâncias semelhantes em relação a carboidratos e gorduras, se diferenciando no pico Amida I e Amida II em decorrência do maior período de maturação sofrido pelo queijo minas padrão.

Segundo Azarias (2017) este comportamento de diminuição da absorbância nas duas bandas de absorção características e originárias do grupamento amida (1640 cm^{-1} e 1550 cm^{-1}) indica ocorrência de proteólise, no decorrer dessas reações

Figura 9 – Espectros das amostras do queijo Minas artesanal e Industrializados do Serro referente a segunda sessão da análise sensorial



Os queijos artesanais maturados na temperatura ambiente e refrigerada (8°C) apresentaram diferenças nas bandas de absorção, sendo que os queijos temperatura ambiente demonstraram maiores absorbâncias associados aos picos de gordura e carboidratos e menores absorbâncias no grupamento amida, ao contrário dos queijos artesanais a 8°C , que apresentaram menores absorbâncias de gordura e carboidratos e maiores absorbâncias do grupamento amida.

Na segunda sessão de análise sensorial o queijo minas padrão teve maior aceitação, seguido pelo meia cura e artesanal a 8°C . A aceitação divergiu entre os queijos industrializados e também com relação a referência, fato esse que pode ser explicado pelas diferenças entre os espectros em relação a amida I e II que foi característica para os queijos que passam por tempo maior de maturação e, conseqüentemente, maior proteólise

Na proteólise há mudanças na textura e funcionalidades do queijo com significativa contribuição para o sabor (McSWENEY, 2011). A produção de peptídeos hidrofóbicos gera o gosto amargo que os consumidores podem rejeitar como ocorrido neste trabalho com o queijo artesanal maturado por aproximadamente 60 dias a temperatura ambiente.

Segundo Osborne (1993), ao estudar diversos queijos, incluindo o meia cura, as características importantes que apresentaram influencia sobre os espectros de infravermelho nas amostras, incluem as bandas relacionadas as ligações C-H que estão associada à gordura, O-H relacionadas com a água e N-H de amidas e aminas em compostos orgânicos relacionados à proteína.

Em relação aos queijos artesanais, a variação nas características dos queijos do Serro, provavelmente ocorreram devido a fabricação artesanal, com o uso de leite cru obtido de rebanho de gado de diferentes produtores rurais. Dando características físico-químicas e sensoriais peculiares a cada queijo estudado (Silva *et al.* 2011; Silva *et al.* 2013) e que provavelmente pode ter influenciado no FTIR-ATR.

Devido à alta complexidade e heterogeneidade de composição dos queijos, variabilidades nos resultados dos espectros puderam ser observadas.

4. CONCLUSÃO

Os resultados revelaram que a aceitação, as características físicas e químicas e os espectros observados no FTIR-ATR dos queijos do Serro artesanal e industrializado variaram significativamente, principalmente, quando comparados os queijos artesanais produzidos com fermento endógeno (“pingo”) como inóculo com os produzidos industrialmente (com leite pasteurizado).

De modo geral, nas duas sessões realizadas, os queijos industrializados tiveram maior aceitação em relação aos queijos artesanais de referência. Em relação à espectroscopia, os espectros obtidos dos queijos industrializados foram semelhantes, porém diferiram em várias bandas espectrais em relação aos artesanais, especialmente as bandas relacionadas à proteólise e lipólise.

Se faz necessário o desenvolvimento de pesquisas relacionadas ao queijo Minas artesanal, especialmente na área de análise sensorial aliada a espectroscopia, a fim de se obter maiores informações sobre as características do queijo e acerca de fatores que influenciam a aceitação, visando melhoria na qualidade do produto

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O queijo Minas artesanal apesar de ser uma tradição, um patrimônio Imaterial da humanidade, requer cuidados, pois pode veicular patógenos, como o *S.aureus* e apresentar resistência a antibióticos e a multirresistência como observada por várias das estirpes isoladas neste trabalho. Sugere-se capacitação com normas de boas práticas para os produtores de queijos Minas artesanal além do fortalecimento da fiscalização por meio dos órgãos responsáveis e conscientização do uso indiscriminado de antibióticos, tanto na prática clínica quanto veterinária.

Nesta pesquisa foi possível verificar a aplicabilidade da espectroscopia infravermelha por transformada de Fourier (FTIR) como uma potencial ferramenta analítica para avaliar a composição físico-química em queijos.

Se faz necessário novos estudos sobre os queijos artesanais, aliando a técnica da espectroscopia a análise sensorial, como a validação de dados espectrais, além da correlação dos espectros obtidos nas bandas das aminas com a proteólise, que pode ser um fator de aceitação ou rejeição dos consumidores em relação aos queijos artesanais.

5. REFERÊNCIAS

ARAÚJO, R. A. B., *et al.* **Diagnóstico socioeconômico, cultural e avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do queijo Minas artesanal da região de Araxá.** Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2004.

ABRAHAMSEN, R. K. Prediction of sensory quality of cheese during ripening from chemical and spectroscopy measurements. **International Dairy Journal**, v. 34, p.6-18, 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas 11136/2016**, Rio de Janeiro: ABNT, p.8, 2016.

AZARIAS, C. A. **Utilização da espectroscopia de infravermelho para determinação rápida do índice de maturação em queijos Pecorino, maturado e Gouda fabricados com leite de ovelha**, 2017, p.104 Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados)- Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, 2017.

BLAZQUEZ, C *et al.* Modelling Of Sensory And Instrumental Texture Parameters In Processed Cheese By Near Infrared Reflectance Spectroscopy. **Journal Of Dairy Research**, p. 58 – 69, 2006.

BERGARA-ALMEIDA, S., APARECIDA, M., & DA SILVA, A. P. Hedonic scale with reference: Performance in obtaining predictive models. **Food Quality and Preference**, p. 57–64. disponível em :<[https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(01\)00057-X](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(01)00057-X)> Acesso em 22 ago. 2018.

BORELLI, B. M. *et al.* Enterotoxigenic *Staphylococcus* spp. and other microbial contaminants during production of Canastra cheese, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 545-550, 2006.

BRUMADO, E. C. C. **Impacto do tipo de fermento endógeno na qualidade e tempo de maturação de queijo minas artesanal produzido em propriedades cadastradas pelo IMA (Instituto Mineiro de Agropecuária) na região do Serro-MG.** Tese (Doutorado Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Viçosa, Minas Gerais, 2016.

CARDOSO, V. M. *et al.*, The influence of seasons and ripening time on yeast communities of a traditional Brazilian cheese. **Food Research International**, v. 69, p. 331–340, 2015.

CARVALHO, M. P. *et al.* As grandes oportunidades do mercado de queijos no Brasil. Milkpoint, 05/02/2015. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/industria/radar-tecnico/mercado/as-grandes-oportunidades-do-mercado-de-queijos-no-brasil-93301n.aspx>>. Acesso em: 16 ago. 2018

CURRÒ, S. *et al.* Technical note: Feasibility of near infrared transmittance spectroscopy to predict cheese ripeness. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 11, 2017.

EMBRAPA. **Características Físico químicas do queijo minas artesanal do Serro com diferentes períodos de maturação.** Disponível em :< <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/151177/1/280.pdf>> Acesso em: 02 ago. 2018.

FERNANDEZ-GARCIA, E., M.; CARBONELL, M. NUNEZ. Volatile fraction and sensory characteristics of Manchego cheese. Comparison of raw and pasteurized milk cheese. **Journal of Dairy Research**, v. 69, p. 579–593, 2002.

GORI, A. *et al.* Discrimination of grated cheeses by Fourier transform infrared spectroscopy coupled with chemometric techniques. **International Dairy Journal**, v. 23, p. 115-120, 2012.

HICKEY, D. K., K. N.; KILCAWLEY, T. P.; BERESFORD, M. G. WILKINSON. Lipolysis in cheddar cheese made from raw, thermized, and pasteurized milks. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p.47–56, 2007.

ITAL. Instituto de Tecnologia de Alimentos. Brasil dairy trends 2020. 1. ed. Campinas: ITAL, 2017. Disponível em: <<http://www.brasildairyrends.com.br.>>Acesso em: 16 ago. 2018.

KOCAOGLU-VURMA, N. A. *et al.* Rapid Profiling of Swiss Cheese by Attenuated Total Reflectance (ATR) Infrared Spectroscopy and Descriptive Sensory Analysis. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 6, p. 232-239, 2009.

LERMA-GARCÍA, J. M.*et al.* Classification of pecorino cheeses produced in Italy according to their ripening time and manufacturing technique using Fourier transform infrared spectroscopy. **American Dairy Science Association**, 2010.

MACHADO, E. C. *et al.* Características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal do Serro, Minas Gerais. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 516-521, 2004.

MARINHO, M. T. *et al.* Antioxidant effect of dehydrated rosemary leaves in ripened semi-hard cheese: A study using coupled TG–DSC–FTIR (EGA). **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 2, p. 1023–1028, 2015.

MARTINS, J. M. **características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo minas artesanal do Serro**. 2006, p.158. Dissertação(Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Viçosa: UFV, 2006.

MARTÍN-DEL-CAMPO, S.T. *et al.* Middle infrared spectroscopy characterization of ripening stages of Camembert-type cheeses. **International Dairy Journal**, v.17, p. 35–845, 2007.

MCSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of Cheese Ripening, **Elsevier**. p. 667-674, 2011.

MENESES, J. N. C. de. Queijo artesanal de Minas: patrimônio cultural do Brasil. Belo Horizonte: Ministério da cultura, 2006. p.139. (**Dossiê interpretativo, v1**)

MINAS GERAIS. Instituto Mineiro de Agropecuária. Queijo Minas Artesanal - IMA. Disponível em: <<http://www.ima.mg.gov.br/queijo-minas-artesanal>> Acesso em: 30 out. 2017

MURPHY, M.; COWAN C.; MEEHAN, H.; O'REILLY, S.. A conjointanalysis of Irish consumer preferences for farmhouse cheese. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 106, p. 288–300, 2004.

MMO - Milk Market Observatory (2016). **European Comission: agriculture and rural development**. Disponível em: <[https:// https://ec.europa.eu/agriculture/sites/agriculture/files/market-observatory/milk/pdf/world-production-main-dairy-products_en.pdf](https://ec.europa.eu/agriculture/sites/agriculture/files/market-observatory/milk/pdf/world-production-main-dairy-products_en.pdf)> Acesso em: 28 julho 2017.

OSBORNE G B, FEARN T, HINDLE PH. Practical NIR spctoscopy with applications in food an beverage analysis. New York: Longman **Scientific e Technical**.1993.

PEREIRA, V.; LOPES, C.; CASTRO, A.; SILVA, J.; GIBBS, P. TEIXEIRA, P. Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. **Food Microbiology**, v. 26, p. 278-282, 2009.

PEREIRA, D. B. C., *et al.* Físico-química do leite e derivados – Métodos analíticos. 1. ed.Juiz de Fora-MG: Oficina de Impressão Gráfica e Editora Ltda. p.190, 2001.

PERIN, L.M. *et al.* Bacterial ecology of artisanal Minas cheeses assessed by culture-dependent and independent methods. **Food Microbiology**, v. 65, p. 160-169, 2017.

PERRY, K.S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 293-300, 2004.

PINTO, M. S. *et al.* The effects of Nisin on *Staphylococcus aureus* count and the physicochemical properties of Traditional Minas Serro cheese. **International Dairy Journal**, v.21, p. 90–96, 2011.

RABELO, M. Boas perspectivas no mercado de lácteos: queijos e proteína do soro do leite em alta. Disponível em: <<http://sistemafeaeg.com.br/noticias/artigos/11466-boas-perspectivas-no-mercado-de-lacteosqueijos-e-proteina-do-soro-do-leite-em-alta>>. Acesso em: 16 ago. 2018

REHMAN, S.-U.; MCSWEENEY, P. L. H.; BANKS, J. M.; BRECHANY, E. Y.; MUIR, D. D.; FOX, P. F. Ripening of Cheddar cheese made from blends of raw and pasteurized milk. **Journal International of Dairy Science**, v. 10, p. 33–44, 2000.

R. KAROUI, *et al.* Espectroscopia de infravermelho médio: uma ferramenta para a determinação de parâmetros químicos em queijos Emmentais produzidos durante o inverno. *Lait*, p. 83 – 97, 2006.

RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; KOCA, N.; HARPER, W. J.; ALVAREZ, V. B. Rapid determination of swiss cheese composition by Fourier Transform Infrared/Attenuated Total Reflectance Spectroscopy. **Journal International of Dairy Science**, Campaign, v. 89, n. 5, p.1407-1412, 2006.

SANTOS, A. S. **Queijo Minas artesanal da microrregião do Serro -MG: efeitos da sazonalidade sobre a microbiota do leite cru e comportamentp microbiológico durante a maturação**. 2010. (Dissertação apresentada ao curso de Pós -Graduação Strictu Sensu em Produção Animal) Diamantina: UFVJM, 2010.

SILVA, P. D. L. *et al.* Influência das boas práticas de ordenha e da ordem de parto sobre a composição e contagem de células somáticas (CCS) do leite bovino. **Revista Verde**, Mossoró – RN, v.6, n.3, p. 01-06, jul/set. 2011.

SILVA, M. C. C. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-Minas artesanal do Serro-MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.6, p. 1570-1574, 2007.

SILVEIRA P. R.; ABREUL. R. Rendimento e composição físico-química do queijo prato elaborado com leite pasteurizado pelo sistema HTST e injeção direta de vapor. **Science and Agrotechnology**. v. 27, n. 6, Lavras, 2003.

SOTO-BARAJAS, M. C. *et al.* Prediction of the type of milk and degree of ripening in cheeses by means of artificial neural networks with data concerning fatty acids and near infrared spectroscopy. **Talanta**, v. 116, p. 50–55, 2013.

SUBRAMANIAN, A. Monitoring amino acids, organic acids, and ripening changes in Cheddar using Fourier-transform infrared spectroscopy. **Journal International of Dairy Science**, v. 21, p. 434-440, 2011.

VAN LEUVEN, I.; VAN CAELENBERG, T.; DIRINCK, P. Aroma characterization of Gouda-type cheeses. **Journal International of Dairy Science**, v. 18, p. 790–800, 2008.